

ENFERMEDAD HUMANA CAUSADA POR EL VIRUS NEPUYO, UN BUNYAVIRUS DE MESOAMERICA TRANSMITIDO POR MOSQUITOS¹

William F. Scherer,² Robert W. Dickerman³ y José V. Ordoñez⁴

El virus Nepuyo ha provocado algunos casos de enfermedad humana en la zona neotropical de las Américas. Se describen dos casos de enfermedad febril leve parecida al dengue ocurridos en Guatemala y se indica que el posible vector es Culex (Melanoconion), como asimismo la necesidad de realizar estudios epidemiológicos y ecológicos detallados.

Introducción

Es relativamente poco lo que se sabe acerca de las enfermedades humanas que pueden causar los bunyavirus del grupo C, Togaviridae. En los estudios originales de los seis primeros virus del grupo C se describieron enfermedades febriles cuya evolución se detenía espontáneamente, sin exantema, que se presentaron en indígenas cerca de Belém, Brasil (1-3). Entre los siete agentes del grupo C identificados como virus diferentes (cuadro 1), todos excepto el Nepuyo (incluido el subtipo de Florida, Gumbo Limbo) han sido observados como patógenos en la naturaleza,

y dos de ellos, Apeu y Oriboca, causaron enfermedades en personal de laboratorio en 1970 (4). Después se ha descrito una enfermedad en el hombre causada por el virus Nepuyo en Guatemala (5). Todos los bunyavirus del grupo C identificados hasta la fecha se han aislado de seres humanos, en los que además se han hallado anticuerpos séricos contra cinco de los virus del grupo. En el presente artículo se describe un segundo caso de enfermedad causada por el virus Nepuyo.

Materiales y métodos

Ya se han descrito previamente (5, 6), los lugares de estudio de La Avellana, departamento de Santa Rosa, en la costa sudoriental de Guatemala (13° 55' de latitud norte y 19° 28' de longitud oeste), y de Puerto Barrios, departamento Izabal, en la costa del Caribe (5° 45' norte, 88° 35' oeste), así como los hábitats existentes en La Avellana. Este pequeño poblado, a unos 60 kilómetros de la frontera con El

¹ Esta investigación se llevó a cabo en colaboración con la Organización Panamericana de la Salud y fue subvencionada en parte por el Comando de Investigaciones Médicas y Desarrollo del Ejército de EUA, de acuerdo con el contrato DADA 17-72-C-2140.

² El Dr. William F. Scherer falleció el 12 de mayo de 1982. Las solicitudes de separatas deberán enviarse al segundo autor.

³ Universidad Cornell, Escuela de Medicina, Departamento de Microbiología. Dirección postal: Cornell University Medical College, 1300 York Ave., New York, N.Y., 10021, EUA.

⁴ Universidad de San Carlos, Escuela de Medicina, Area de Ciencias Biológicas, Ciudad de Guatemala, Guatemala.

Salvador, se sitúa junto a un canal de aguas salobres que bordea una extensa zona pantanosa de agua dulce a salobre. Puerto Barrios es el único puerto en la costa oriental de Guatemala. Los estudios se realizaron en una base militar establecida entre zarzales y bosque tropical secundario húmedo. Esos hábitats estaban limitados por terrenos planos que cubrían las mareas altas, estrechamente circundados por manglares. En ambos lugares de estudio el virus Nepuyo es enzoótico (7, 8).

En publicaciones previas (5-8) se han descrito y expuesto las ventajas de las técnicas de aislamiento y pruebas de reducción de placas por neutralización (N), inhibición de la hemaglutinación (IH), y fijación del complemento (FC). Para la identificación y para las pruebas serológicas se utilizaron anticuerpos de cobayo contra la cepa mexicana 63U11 (9).

Resultados

Enfermedad causada por el virus Nepuyo en el hombre

En el curso de los estudios del virus de la encefalitis venezolana realizados en La Avellana, departamento de Santa Rosa, en la costa guatemalteca del Pacífico, se

contrajeron dos infecciones por virus Nepuyo (6).

Un caso se presentó en agosto de 1972 (RD) (5) y el otro en agosto de 1977 (WS). En ambos casos apareció una enfermedad febril de comienzo súbito, con cefalea, mialgias y postración, de gravedad parecida a la del dengue clásico, la cual se resume en el cuadro 2.

En los dos casos aparecieron viremias de título elevado. La sangre del primer caso (RD, cepa 72Z150), que antes de ser analizada se había congelado a -70°C durante más de seis años, dio un título de $10^{6.7}$, calculado por la DL_{50}/ml a la inoculación intracraneal de ratón lactante (icRL). La sangre congelada del segundo caso (WS, cepa 77Z3) dio un título de $10^{7.4}$ DL_{50}/ml en icRL, según pruebas realizadas ocho meses después.

Con encéfalo-hígado (en solución salina al 20%) de hámsters inoculados subcutáneamente (72Z150) o de ratones lactantes (77Z3) que murieron durante el aislamiento del virus, se prepararon antígenos fijadores del complemento. Ambos antígenos reaccionaron en la prueba de FC con líquido ascítico de ratón NIH del grupo polivalente C (título antigénico 1:64). El antígeno de la cepa 72Z150 reaccionó con el antisero Nepuyo de cobayo (título antigénico 1:32); el antígeno 77Z3 reac-

CUADRO 1—Clasificación de los bunyavirus del grupo C.^a

Complejos	Virus	Subtipo	Distribución	
Caraparu	Caraparu (CAR)	Ossa (OSSA)	Panamá a Brasil	
	Apeu (APEU)		Brasil	
	Madrid (MAD)		Panamá	
Marituba	Marituba (MTB)	Murutucu (MUR),	Trinidad a Brasil	
	Nepuyo (NEP)	Restan (RES)		Sur de Florida,
		Gumbo Limbo (GL)		México y Mesoamérica
Oriboca	Oriboca (ORI)		Guayana francesa a Brasil	
	Itaqui (ITQ)		Brasil	

^a Berge, T. O. (4).

cionó con un título de 1:64. El antígeno de la cepa 72Z150 no reaccionó con el antisuero contra los virus Patois (63A49), encefalitis venezolana (TC83) o Minatitlán (70U39), o con los líquidos ascíticos de ratón NIH, a los grupos A, B o Capim.

Las pruebas de reducción de placas por neutralización se realizaron en cultivos de células Vero (cepa 72Z150) o por inoculación intracraneal de ratones lactantes (cepa 77Z3). El índice logarítmico de neutralización de ambas cepas al antisuero Nepuyo (cepa 63U11) fue más de 4,1, mientras que era superior a 4,7 frente a la cepa homóloga 63U11.

En el curso de estas enfermedades aparecieron anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación, pero sorprendentemente no se detectaron anticuerpos fijadores del complemento (FC) (cuadro 2).

Del mismo modo, no se pudieron detectar anticuerpos FC en 97 sueros humanos de residentes adultos (21 de más de 60 años de edad) de Puerto Barrios, departamento de Izabal, en la costa del Caribe de

Guatemala. En cambio, 22 de 109 sueros (incluidos los 97 sometidos a pruebas de anticuerpos de FC Nepuyo) mostraron anticuerpos FC contra el virus de la encefalitis venezolana (8). Tanto el virus Nepuyo como el de la encefalitis venezolana son endémicos en la región de Puerto Barrios, como se ha puesto de manifiesto en aislamientos efectuados en hámsters centinelas (6), y en el hecho de que se hayan aislado cuatro agentes del grupo C en hámsters centinelas en 1968 y 1979. (Dos de ellos se identificaron como Nepuyo.)

Discusión

Hasta ahora solo se han encontrado bunyavirus del grupo C en países del hemisferio occidental (cuadro 1). Los ciclos mosquito-vertebrado de estos bunyavirus del Nuevo Mundo no se han estudiado con detalle para cada uno de los virus, pero en los ciclos naturales es evidente que intervienen mosquitos del género *Culex*, sobre todo del subgénero *Melanoconion*,

CUADRO 2—Dos casos de enfermedad febril en varones contraída en los bajos del Pacífico de Guatemala, causada por el virus Nepuyo, bunyavirus del grupo C.

Iniciales del caso, edad (años) y cepa	Fecha del comienzo de la enfermedad y cuadro clínico	Día del comienzo de la enfermedad	Aparición de anticuerpos				
			Títulos en el suero ^a				
			N		IH	FC	
			72Z150 ^a	77Z3 ^a	63U11	63U11	77Z3
RD, 45	30 agosto 1972, fiebre (máx. 39,2 °C), cefalea, mialgias; en cama 2 días, afebril al 3er día	-64	0,4			4	
		33	3,2			4	
72Z150		12 meses	2,2		20	4	
WS, 52	9 agosto 1977, fiebre (máx. 39,4 °C), cefalea, debilidad, malestar, anorexia, espasmos musculares en piernas; en cama 2 días, afebril al 3er día, fatigabilidad por una semana	-29 meses		0,2	10	4	4
		2		0,6	10	4	4
77Z3		34		3,2	40	4	4
		6 meses		3,2	20	4	4

^a Prueba N en células Vero frente a 72Z150; ic en ratón lactante frente a 77Z3. IH frente a hemaglutinina sérica de hámster, 4-8 unidades. FC frente a antígeno 63U11 para los sueros RD y WS, y también frente a 77Z3 para el suero WS.

y roedores, marsupiales y seres humanos (cuadro 3).

La reiterada aparición en Guatemala de casos de enfermedad febril leve, semejante al dengue, causada por el virus Nepuyo pone de manifiesto la amplia distribución de la afección provocada por bunyavirus del grupo C, si bien la incidencia de la enfermedad es desconocida. Raramente se señalan a la atención de los médicos los procesos febriles leves y esporádicos de las personas que habitan en regiones rurales, en especial cuando esos procesos atacan sobre todo a los niños, como sucede con frecuencia en las regiones de fuerte endemicidad; el resultado es que suelen quedar como de etiología indeterminada. Incluso la incidencia de infecciones ha sido poco estudiada, con excepción de la región de Belém, en Brasil (cuadro 4).

Viene a complicar las encuestas serológicas el hecho de que los anticuerpos IH

no sirven para distinguir entre algunos de los virus del grupo (Apeyu y Caraparu, cuadro 4). La prueba de neutralización, que es más específica, se ha practicado poco, a causa probablemente de que es preciso utilizar ratones lactantes, algunos cultivos primarios de células (riñón de mono) o algunas líneas celulares establecidas (Vero, Hela, BHK-21 o LLC-MK₂). Al parecer, estos agentes no estimulan en el ser humano la producción de anticuerpos fijadores del complemento, que no se han podido encontrar en sueros tomados 33 y 34 días después del comienzo de enfermedades causadas por virus Nepuyo (cuadro 2). Tampoco se han encontrado en sueros de 97 personas procedentes de una región de endemicidad conocida (mientras que 20% de esos mismos sueros tenían anticuerpos FC contra el virus de la encefalitis venezolana). El probable vector de ambos agentes en esa región es *Culex (Melanoconion) taeniopus*, y am-

CUADRO 3—Aislamientos de bunyavirus del grupo C, además de los realizados en animales centinelas.^a

Virus y subtipo	Fuente del aislamiento						
	Personas	Roedores	Marsupiales	Otros vertebrados	<i>Culex (Mel)</i>	<i>Culex (Culex)</i>	Otros mosquitos
Caraparu	10	37 ^b	1 ^b (raro)		35	20	2
Ossa	1	1			6		
Apeyu	3	2 ^b	1		2	2	2
Madrid	1	1			4		
Marituba	3	1	1 ^b		5		
Murutucu	3	12	4 ^b	1 (perezoso)	8	5	2
Restan	3				2		
Nepuyo	2 ^c	2		2 (murciélagos)		5	
Gumbo							
Limbo		2			61		2
Oriboca	13	9 ^b	2 ^b		45	14	8
Itaqui	1	11 ^b	2 ^b (raro)		13	7	

^a Berge, T. O. (4).

^b También había anticuerpos IH.

^c El presente informe.

CUADRO 4—Anticuerpos contra bunyavirus del grupo C en seres humanos.^a

Virus o subtipo	Número positivo/ número ensayado	Prueba	Región
Apeu ^b	152/1362	IH	Pará, Amazonas, Brasil
Madrid	3/96	IH	Almirante, Panamá
Marituba			
(Murutucu)	53/1360	IH	Pará, Amazonas, Brasil
(Restan)	17/410	N	Suriname
Nepuyo	3/45	N	Trinidad
Oriboca	38/1362	IH	Pará, Amazonas, Brasil

^a Berge, T. O. (4).

^b Las pruebas IH no permitían distinguir entre los anticuerpos contra virus Apeyu y virus Caraparu.

bos virus se han aislado en hámsters centinelas (8).

Será preciso realizar nuevos estudios epidemiológicos de enfermedades causadas por esos agentes si se quiere definir su intervención en la incidencia de procesos febriles leves parecidos al dengue. Cuando los sueros de esos casos se sometan a pruebas de neutralización, se habrán de incluir los agentes del grupo C que posiblemente estén presentes en la región. Sólo en la región de Belém, Brasil, se han realizado investigaciones ecológicas detalladas de bunyavirus del grupo C. Será preciso emprender estudios comparativos en otros lugares.

Resumen

En el curso de estudios sobre el virus de la encefalitis venezolana realizados en La Avellana, departamento de Santa Rosa, en la costa del Pacífico de Guatemala se con-

trajeron dos infecciones por virus Nepuyo, un bunyavirus del complejo del grupo C de la zona neotropical. Un caso se presentó en agosto de 1972 y el otro en agosto de 1977. En ambos casos apareció una enfermedad febril leve, parecida al dengue, con viremia, comienzo súbito, cefalea, mialgias y postración. Se encontraron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación y neutralizantes, pero no anticuerpos fijadores del complemento. Probablemente los vectores selváticos sean mosquitos del complejo *Culex (Melanoconion)*, mientras que como huéspedes vertebrados amplificadores de los arbovirus del grupo C actúan roedores, marsupiales y seres humanos. En todo caso, convendría realizar estudios ecológicos detallados. ■

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento a Jayne Chin y a Heidi Rubino por su excelente asistencia técnica.

REFERENCIAS

1. Causey, O. R., Causey, C. E., Maroja, O. M. y Macedo, D. G. The isolation of arthropod-borne viruses, including members of two hitherto undescribed serological groups in the Amazon region of Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 10:227-240, 1961.
2. Shope, R. E., Causey, C. E. y Causey, O. R. Itaquí virus, a new member of arthropod-borne

- group C. *Am J Trop Med Hyg* 10:264-265, 1961.
3. Casals, J. y Whiteman, L. Group C, a new serological group of hitherto undescribed arthropod-borne viruses. Immunological studies. *Am J Trop Med Hyg* 10:250-258, 1961.
 4. Berge, T. O. ed. *International Catalogue of Arboviruses, Including Certain Other Viruses of Vertebrates*. 2 ed. Washington, D.C., U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1975. (Publicación-75-8301.)
 5. Scherer, W. F., Dickerman, R. W., Ordoñez, J. V., Seymour III, C., Kramer, L. D., Jahrling, P. B. y Powers, C. D. Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus and isolations of Nepuyo and Patois viruses during 1968-1973 at a marsh habitat near the epicenter of the 1969 outbreak in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 25:151-162, 1976.
 6. Scherer, W. F., Dickerman, R. W. y Ordoñez, J. V. Discovery and geographic distribution of Venezuelan encephalitis in Guatemala, Honduras and British Honduras during 1965-1968, and its possible movement to Central America and Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 19:703-711.
 7. Scherer, W. F., Cupp, E. W., Ordoñez J. V., y Dickerman, R. W. Ecologic observations of Venezuelan encephalitis alphavirus in vertebrates and isolations of Nepuyo and Patois bunyaviruses from sentinel hamsters at focal Pacific and Atlantic coastal habitats in Guatemala over a 13 year period, 1968-1980. (En preparación.)
 8. Cupp, E. W., Scherer, W. F., Lok, J. B., Brenner, R. J., Dziem, G. M. y Ordoñez, J. V. Ecologic studies of Venezuelan encephalitis alphavirus and mosquitoes and isolations of St. Louis encephalitis flavivirus and Nepuyo bunyavirus at a focal Pacific coast habitat in Guatemala during 1977-1978. (En preparación.)
 9. Scherer, W. F., Zarate, M. y Dickerman, R. W. Discovery and identification of Group C, Nepuyo arbovirus in Mexico. *Bol Of Sanit Panam* 66(4):325-338, 1969.

Human disease caused by Nepuyo virus, a mosquito-borne bunyavirus of Middle America (Summary)

Two infections with Nepuyo virus, a bunyavirus of the group C complex of the neotropics, were contracted during studies of Venezuelan encephalitis virus at La Avellana, Santa Rosa Department, on the Pacific coast of Guatemala. One case occurred in August 1972, and the other in August 1977. Both were mild dengue-like febrile illness with viremia, sudden onset, headache, myalgia and

prostration. Hemagglutination inhibition and neutralization antibodies developed, but not complement fixing antibodies. Mosquitoes of the *Culex (Melanoconion)* complex are probably the sylvatic vectors, with rodents, marsupials and humans acting as the vertebrate amplifying hosts of group C arboviruses. However detailed ecological studies are lacking.

Doença humana causada pelo vírus Nepuyo, um bunyavírus da Meso-América transmitido pelos mosquitos (Resumo)

Durante os estudos realizados sobre o vírus da encefalite venezuelana em La Avellana, departamento de Santa Rosa, na costa do Pacífico, na Guatemala, contraíram-se duas infecções por vírus Nepuyo, um bunyavírus do grupo do complexo C dos neotropicais. Um dos

casos ocorreu em agosto de 1972 e o outro apareceu em agosto de 1977. Os dois se manifestaram como uma doença febril benigna semelhante a um caso de dengue com viremia, começo repentino, cefaléia, mialgia e prostração. Desenvolveram-se inibição por

hemaglutinação e anticorpos de neutralização mas não anticorpos fixadores do complemento. Os mosquitos do complexo *Culex (Melanoconion)* são, provavelmente, os vectores selvagíneos, dando a mão aos animais

roedores, marsupiais e seres humanos atuando como hospedeiros vertebrados e ampliados dos arbovírus do grupo C. Contudo, ainda nos faltam estudos ecológicos pormenorizados.

Maladie de l'homme provoquée par le virus Nepuyo, un bunyavirus méso-américain transmis par les moustiques (Résumé)

Deux infections par virus Nepuyo, un bunyavirus du complexe groupe C de la zone néotropicale, ont été contractées au cours des études du virus de l'encéphalite vénézuélienne qui ont été menées à La Avellana (département de Santa Rosa) sur la côte Pacifique du Guatemala. Dans les deux cas—l'un qui s'est présenté en août 1972 et l'autre en août 1977—il y a eu affection fébrile légère, semblable à la dengue avec virémie, déclaration subite de la maladie, céphalée, myalgies et prostration. On a découvert des

anticorps inhibiteurs de l'hémagglutination et neutralisants, mais pas d'anticorps susceptibles de fixer le complément. Il est à supposer que les vecteurs sylvestres de ce virus sont des moustiques du complexe *Culex (Melanoconion)* tandis que les rongeurs, marsupiaux et êtres humains figurent au nombre des hôtes vertébrés amplificateurs des arbovirus du groupe C. Cette question mériterait que soient réalisées des études écologiques approfondies.