

MANADAS DE CABALLOS COMO CENTINELAS PARA DETECTAR LA ACTIVIDAD DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN NICARAGUA, 1977¹

Robert W. Dickerman² y William F. Scherer²

Los sueros tomados de 93 caballos en ranchos nicaragüenses y las pruebas serológicas que se practicaron para detectar en ellos la presencia de anticuerpos del virus de la encefalitis equina venezolana (EEV), muestran que tales caballos pueden servir de centinelas baratos y eficaces para detectar la actividad de ese virus.

Introducción

Hay datos abundantes sobre la epizootia equina y epidemia de encefalitis equina venezolana (EEV) en América Central que comenzó en junio de 1969 cerca de la frontera entre El Salvador y Guatemala (1-6). Ese brote se propagó hacia el sureste llegando a Guanacaste, Costa Rica, en 1970, y hacia el norte alcanzando el sur de Texas en 1971.

Los últimos casos conocidos de infección equina por la cepa exótica I-AB, subtipo virulento para los équidos, del virus de la EEV en América Central se registraron en el departamento nicaragüense de Chinandega en abril-julio de 1972 (7). Se desconoce si el virus remanente del brote de 1969

en Nicaragua fue el que causó esa actividad o si la misma se debió a la reintroducción del virus (7). Las extensas indagaciones para detectar la posible persistencia de la actividad de cepas epizooticas del virus de la EEV en El Salvador, Guatemala y Nicaragua durante 1970-1975 (indagaciones en las que se emplearon caballos y hámsters centinelas, encuestas serológicas en seres humanos y roedores salvajes, y las tentativas de aislar el virus en mosquitos) dieron todas resultados negativos (7, 8).

Ante la importancia del virus de la EEV para la salud de équidos y seres humanos, es conveniente seguir vigilando la actividad de ese virus en la América tropical. Por tal motivo, en 1977 continuaron las indagaciones de la actividad del virus en la franja costera del Pacífico de Nicaragua mediante pruebas con sueros tomados de manadas de caballos en hábitats naturales. En estos sueros se analizó la presencia de anticuerpos que se crearon en respuesta a cepas epizooticas (más que enzoóticas o vacunales) del virus de la EEV. En el presente artículo se reseñan los resultados de esa investigación.

¹ Se publica en inglés en el *Bulletin of the Pan American Health Organization*. Esta investigación se llevó a cabo con la colaboración de la Organización Panamericana de la Salud y del Gobierno de Nicaragua, y bajo el patrocinio parcial del United States Army Medical Research and Development Command, Washington, D.C. 20314, bajo contrato N° DADA 17-72-C-2140.

² Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Cornell, EJA. Dirección postal: 1300 York Avenue, New York, N.Y. 10021. El Dr. Scherer falleció el 12 de mayo de 1982.

Materiales y métodos

La población en estudio estaba formada por caballos jóvenes no inoculados antes con vacuna del virus de la EEV. En dos ranchos del departamento de Chinandega y en otros dos del departamento de Rivas se tomó sangre de 93 caballos por venipuntura yugular y se la depositó en tubos desechables de plástico de 50 ml. (Estos dos departamentos están en la costa nicaragüense del Pacífico y lindan con Honduras y Costa Rica, respectivamente.) Se dejó coagular la sangre en hielo "húmedo" (H_2O). A continuación se separó el coágulo de los lados del tubo para que se depositara y se retrajera y se decantaron 5-6 ml de suero en dos frascos de tapón roscado de 15 × 48 mm. Estos sueros se conservaron en hielo seco hasta su llegada a Nueva York, donde se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se efectuaron pruebas de neutralización por reducción de placas con cultivos celulares de embrión de pollo, empleando monocapas de células de 2 cm^2 en cada uno de tres pocillos de láminas de plástico por suero (8). Se utilizaron las siguientes cepas del virus de la EEV: cepa vacunal TC83 y cepa 69Z1 aislada de una persona en Guatemala, ambas subtipo I-AB, y la cepa 68U201 aislada en un hámster en Guatemala, subtipo I-E, enzoótico en América Central (8).

Los sueros, calentados a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 min, se analizaron primero en una dilución al 1:4 mediante una prueba de neutralización con dilución del virus. Luego se analizaron sueros positivos seleccionados, mediante pruebas de neutralización con dilución del suero para las que se emplearon diluciones séricas triples, comenzando con 1:4, y aproximadamente 180 unidades formadoras de placas de TC83, 250 de 69Z1, u 800 de 68U201. Se consideró positivo un índice de neutralización \log_{10} mayor de 1,6 (reducción de placas de 98% o mayor).

Resultados

Se hallaron anticuerpos neutralizantes de la cepa epizootica (69Z1) y de la cepa vacunal (TC83) en los sueros de 30 y 34 caballos, respectivamente, de los 93 que se analizaron (cuadro 1). La mayoría de los sueros positivos se obtuvieron en animales de 5 a 10 años de edad, es decir, en animales que vivían en 1972 durante el último período conocido de la epizootia de la EEV en Nicaragua. Los anticuerpos se hallaron en los sueros de caballos que vivían en las zonas costeras septentrional y meridional del Pacífico de Nicaragua.

Se realizaron pruebas de neutralización por dilución del suero y reducción de placas en 20 sueros de caballos "jóvenes no vacunados", que resultaron positivos a las cepas epizootica y vacunal de la EEV (cuadro 2). Cinco de siete sueros tomados de caballos nacidos después de la epizootia (1973-1974) tenían anticuerpos inducidos por virus vacunal; en dos caballos los resultados no eran interpretables. Tres de los 13 caballos nacidos durante el brote (1971-1972) tenían anticuerpos inducidos probablemente por virus epizootico, y cinco tenían anticuerpos inducidos probablemente por virus vacunal; los cinco sueros restantes no dieron resultados interpretables en lo que respecta a los anticuerpos. Por consiguiente, en estos caballos centinelas no se hallaron manifestaciones inequívocas de infecciones por virus epizootico de la EEV entre 1972 y agosto de 1977.

Discusión

Esta encuesta serológica de 1977 sobre 93 caballos de los que se tomó sangre en cuatro ranchos de los departamentos nicaragüenses de Chinandega y Rivas no reveló indicios de actividad natural de la EEV desde que terminó el brote de 1972. Tales resultados concuerdan con los obte-

CUADRO 1—Prevalencia de anticuerpos, detectados por la prueba de neutralización por reducción de placas, contra las cepas epizootica y vacunal del virus de la EEV hallados en sueros de 93 caballos "jóvenes no vacunados" de los que se tomó sangre, Nicaragua, agosto de 1977.

Lugar	Edad (en años)	Año aproximado de nacimiento	Fracciones de caballos con anticuerpos neutralizantes detectables en el suero contra EEV subtipo I	
			Cepa epizootica 69Z1	Cepa vacunal TC83
	6-7	1970-1971	2/2	2/2
Departamento de Chinandega, a unos 15 km al suroeste de la frontera con Honduras	5	1972	1/2	1/2
	4	1973	1/4	2/4
	3	1974	1/7	1/7
	2	1975	0/1	0/1
	1	1976	0/7	2/7
Subtotal			5/23	8/23
	6-10	1967-1971	10/14	11/14
Departamento de Chinandega, a unos 20 km al suroeste de la frontera con Honduras	5	1972	1/7	1/7
	4	1973	0/6	0/6
	3	1974	1/2	1/2
	2	1975	0/3	0/3
	Subtotal			12/32
	6	1971	2/6	2/6
Departamento de Rivas, a unos 25 km al norte de la frontera con Costa Rica	5	1972	0/1	0/1
	4	1973	1/3	1/3
	2	1975	0/2	0/2
	1,5	1976	0/4	0/4
	Subtotal			3/16
	6-7	1970-1971	2/6	2/6
Departamento de Rivas, a unos 30 km al norte de la frontera con Costa Rica	5	1972	5/6	4/6
	4	1973	1/1	1/1
	3	1974	1/2	1/2
	2-2,5	1975	1/7	2/7
	Subtotal			10/22
Total			30/93 (32%)	34/93 (37%)

nidos en la última encuesta anterior con equinos nicaragüenses en 1975 (7). Asimismo, pusieron en evidencia que más del 65% de los caballos de la muestra carecían de anticuerpos neutralizantes específicos del virus de la EEV detectables en una dilución de suero al 1:4 y eran, por tanto, probablemente susceptibles a la infección.

Este estudio demostró una vez más la posibilidad práctica de utilizar manadas

de equinos en ranchos para vigilar con un costo reducido la actividad del virus de la EEV. Dichos animales son fáciles de sangrar con una aguja estéril que permita depositar la sangre directamente en un tubo de ensayo esterilizado. No es necesaria la centrifugación *in situ*, ya que el volumen de sangre es suficiente para que el suero se decante después de que se ha retraído el coágulo.

Han pasado 10 años desde que en 1972

CUADRO 2—Resultados de las pruebas de neutralización por dilución del suero y reducción de placas con cepas epizoótica, enzoótica y vacunal del virus de la EEV para analizar sueros de 20 caballos "jóvenes no vacunados", Nicaragua, agosto de 1977.

Año de nacimiento de los caballos	Recíproco del título de anticuerpos neutralizantes en dilución del suero contra EEV subtipo I			Origen probable del estímulo antigénico para la producción de anticuerpos contra virus de la EEV		
	Cepa epizoótica 69Z1	Cepa vacunal TC83	Cepa enzoótica 68U201	Virus epizoótico	Virus vacunal	Virus enzoótico
<i>Después de la epizootia</i>						
1973	12	108	< 4		+	
1973	12	108	12		+	
1974	12	972	< 4		+	
1974	36	> 2 196	< 4		+	
1974	12	36	4		+	
1973	4	4	4	?	?	?
1974	12	12	4	?	?	
<i>Durante la epizootia</i>						
1971	324	108	36	+		
1971	108	36	36	+		
1971	324	108	108	+		
1971	108	324	36		+	
1972	4	12	< 4		+	
1972	36	108	12		+	
1972	36	108	4		+	
1972	4	36	12		+	
1971	36	36	12	?	?	
1972	12	12	4	?	?	
1972	36	36	4	?	?	
1972	4	4	< 4	?	?	
1970	12	36	36		?	?

murieron los últimos equinos a causa de la infección con virus de la EEV en el departamento de Chinandega. Por tanto, a menos que los programas de vacunación hayan sido extraordinariamente completos, es posible que la proporción de equinos susceptibles al virus de la EEV sea aún mayor que la que se encontró en este estudio. En consecuencia, se debería establecer un programa periódico de vigilancia de los anticuerpos de la EEV presentes en manadas de equinos en éstas y otras regiones de América Central susceptibles a la actividad de este virus.

La presencia de anticuerpos neutralizantes de la EEV inducidos por virus vacunales en caballos que, según el personal de los ranchos, "no estaban vacunados" no hace sino destacar la poca fe que merecen tales afirmaciones obtenidas sobre el terreno sin otras pruebas. Lo mejor, pues, sería que los programas de vigilancia de anticuerpos y vacunación contra la EEV para equinos se hicieran con equinos marcados, para que, además de vigilar los niveles de anticuerpos en la población general, se pueda seguir la historia serológica de cada animal.

Resumen

Se practicaron pruebas de neutralización por reducción de placas con 93 sueros de caballo recogidos en las zonas costeras del Pacífico de Nicaragua en agosto de 1977. Los resultados muestran que aproximadamente el 65% de los animales no tenían anticuerpos neutralizantes contra las cepas epizootica, enzoótica y vacunal del virus de la encefalitis equina venezolana (EEV) detectables en dilución del suero al 1:4 y, por consiguiente, eran susceptibles a la infección causada por este virus. Cinco de siete caballos nacidos en 1973 ó 1974 tenían anticuerpos neutralizantes indicativos de infección por la cepa vacunal del virus de la EEV, mientras que en los otros dos se obtuvieron resultados de difícil interpretación en lo relativo a los anticuerpos. Las prevalencias de anticuerpos eran similares así se midiesen con la cepa vacunal o con la epizootica del virus de la EEV. Esta encuesta demostró

que manadas de equinos en hábitats naturales pueden servir de centinelas para vigilar la actividad del virus de la EEV y la eficacia de los programas de vacunación de equinos contra la EEV. También destacó la necesidad de un programa de vigilancia periódica de los niveles de anticuerpos contra la EEV en manadas de equinos, en las regiones de América Central susceptibles a la actividad del virus de esta enfermedad. ■

Agradecimiento

Los autores agradecen la colaboración técnica de J. Chin. El Dr. R. González Q., del Ministerio de Agricultura de Nicaragua, facilitó la investigación. Los propietarios y administradores de los ranchos Cosiguena y El Genizaro (en el departamento de Chinandega) y Hacienda Palermo y La Estancia (en el departamento de Rivas), así como sus empleados, fueron muy generosos con su tiempo y esfuerzo para ayudar en la obtención de muestras de sangre de equinos.

REFERENCIAS

1. Frank, P. T. y Johnson, K. M. An outbreak of Venezuelan equine encephalomyelitis in Central America: Evidence for exogenous source of a virulent subtype. *Am J Epidemiol* 94:487-495, 1971.
2. Sudia, W. D., Lord, R. D., Newhouse, V. F., Miller, D. L. y Kissling, R. E. Vector-host studies of an epizootic of Venezuelan equine encephalomyelitis in Guatemala, 1969. *Am J Epidemiol* 93:137-143, 1971.
3. Scherer, W. F., Ordóñez, J. V., Jahrling, P. B., Pancake, B. A. y Dickerman, R. W. Observations of equine, humans, and domestic and wild vertebrates during the 1969 equine epizootic and epidemic of Venezuelan encephalitis in Guatemala. *Am J Epidemiol* 95:255-266, 1972.
4. Hinman, A. R., McGowan, J. E., Jr. y Henderson, B. E. Venezuelan equine encephalomyelitis: Surveys of human illness during an epizootic in Guatemala and El Salvador. *Am J Epidemiol* 93:130-136, 1971.
5. Walton, T. E., Brautigam, F. E., Ferrer, J. A. y Johnson, K. M. Epizootic Venezuelan equine encephalomyelitis in Central America. Disease pattern and vaccine evaluation in Nicaragua, 1969-1970. *Am J Epidemiol* 95:247-254, 1972.
6. Martin, D. H., Eddy, G. A., Sudia, W. D., Reeves, W. C., Newhouse, V. F. y Johnson, K. M. An epidemiologic study of Venezuelan equine encephalomyelitis in Costa Rica, 1970. *Am J Epidemiol* 95:565-578, 1972.
7. Scherer, W. F., Ordóñez, J. V., Dickerman, R. W. y Navarro, J. E. Search for persistent epizootic Venezuelan encephalitis virus in Guatemala, El Salvador, and Nicaragua during 1970-1975. *Am J Epidemiol* 104:60-73, 1976.
8. Scherer, W. F., Anderson, K., Pancake, B. A., Dickerman, R. W. y Ordóñez, J. V. Search for epizootic-like Venezuelan encephalitis virus at enzootic habitats in Guatemala during 1969-1971. *Am J Epidemiol* 103:576-588, 1976.

Equine herds as sentinels for Venezuelan equine encephalitis virus activity in Nicaragua, 1977 (Summary)

Plaque-reduction neutralization tests were performed with 93 horse sera collected in the Pacific coastal lowlands of Nicaragua during August 1977. The results reveal that about 65% of the animals were without neutralizing antibodies to epizootic, enzootic, or vaccine strains of Venezuelan equine encephalitis (VEE) virus detectable at a 1:4 serum dilution, and thus were probably susceptible to VEE virus infection. Five of seven horses born in 1973 or 1974 had neutralizing antibody patterns indicative of infection by the vaccine strain of VEE virus, while the two others had

uninterpretable antibody patterns. Antibody prevalences were similar whether measured with the VEE vaccine strain or an epizootic VEE virus strain. This survey demonstrated that naturally occurring herds of equine animals can be effectively used as sentinels for monitoring the activity of VEE virus and the effectiveness of VEE equine vaccination programs. It also indicated the need for a program providing periodic monitoring of VEE antibody in equine herds within portions of Central America susceptible to VEE virus activity.

Cavalhadas que servem de sentinelas para detectar a atividade do vírus da encefalite eqüina venezuelana na Nicarágua, 1977 (Resumo)

Fizeram-se testes de neutralização por redução de placas com 93 soros de cavalo colhidos nas zonas costeiras do Pacífico da Nicarágua em agosto de 1977. Os resultados mostram que aproximadamente 65% dos animais não tinham anticorpos neutralizantes contra a cepa epizootica, enzootica e vacinal do vírus da encefalite eqüina venezuelana (EEV) que se possam detectar numa diluição do soro a 1:4 e que portanto eram suscetíveis à infecção causada por esse vírus. Cinco dos sete cavalos nascidos em 1973 ou 1974 tinham anticorpos neutralizantes indicativos de infecção pela cepa vacinal do vírus da EEV, enquanto que dos outros dois obtiveram-se

resultados de interpretação difícil no que se relaciona com anticorpos. As prevalências de anticorpos eram similares se se medissem tanto com a cepa vacinal como com a epizootica do vírus de EEV. Esse levantamento demonstrou que as cavalhadas nos seus habitats naturais podem servir de sentinelas para vigiar a atividade do vírus da EEV e a eficácia dos programas de vacinação de eqüinos contra a EEV. O estudo também ressaltou a necessidade de que haja um programa de vigilância periódica dos níveis de anticorpos contra a EEV em cavalhadas nas regiões da América Central que são suscetíveis à atividade do vírus dessa doença.

Troupeaux de chevaux jouant le rôle de sentinelles pour déceler l'activité du virus de l'encéphalite équine vénézuélienne, au Nicaragua, 1977 (Résumé)

On a pratiqué des tests de neutralisation par réduction de plaques avec 93 sérums de cheval recueillis dans les zones côtières du Pacifique, au Nicaragua, en août 1977. Les résultats prouvent qu'approximativement 65% des animaux n'étaient pas porteurs d'anticorps

neutralisants contre les souches épizootiques, enzootiques et de vaccin du virus de l'encéphalite équine vénézuélienne (EEV) décelables en dilution de sérum à 1:4 et, par conséquent, étaient susceptibles à l'infection par ce virus. Sur sept chevaux, nés en 1973 ou

1974, cinq portaient des anticorps neutralisants indicatifs d'infection par la souche de vaccin du virus de l'EEV, tandis que chez les deux autres on a obtenu des résultats d'interprétation difficile en ce qui touche aux anticorps. Les prévalences d'anticorps étaient similaires qu'elles soient mesurées avec la souche de vaccin ou avec la souche épizootique du virus de l'EEV. Cette enquête a démontré que des troupeaux de chevaux, dans des

habitats naturels, peuvent servir de sentinelles pour surveiller l'activité du virus de l'EEV et l'efficacité des programmes de vaccination des chevaux contre l'EEV. On a souligné, de même, le besoin d'un programme de surveillance périodique des niveaux d'anticorps contre l'EEV parmi les troupeaux de chevaux dans les régions d'Amérique centrale sensibles à l'activité du virus de cette maladie.

SE JUBILA LA SRTA. ELSIE J. MORCOM

El 30 de noviembre de 1982, después de 29 años de servicio a la Organización Panamericana de la Salud, se jubiló la señorita Elsie J. Morcom, Jefe de la Oficina de Publicaciones. Un nutrido grupo de funcionarios y compañeros de trabajo que tuvieron la oportunidad y el privilegio de conocer e interactuar con Elsie Morcom se reunieron en la rotonda de la Sede de la OPS para darle un testimonio público de reconocimiento al terminar de cumplir su misión con la Organización. En efecto, han sido largos años de intensa labor intelectual en los que la homenajeadá demostró a través de numerosas pruebas su carácter, integridad, capacidad intelectual, energía, iniciativa y excelencia en su competencia profesional. Como dijo el Dr. Manuel Bobenrieth, Jefe de la Oficina de Publicaciones Biomédicas y de Salud al dar la despedida a Elsie Morcom, "ha demostrado un muy alto juicio en todas las misiones encomendadas, pudiendo confiarse totalmente en que produciría un trabajo a conciencia, de altísima calidad, ha tenido una muy alta consideración, respeto, firmeza y apoyo a todos los demás funcionarios, tanto profesionales como de servicios generales; una excelente colaboración y discreción; una absoluta lealtad a sus altos valores de vida y a los objetivos de la Organización". No hay duda de que es muy grande el vacío que deja al marchar. Pero la inspiración que supo imprimir a su trabajo ha sido transmitida a los que compartieron con ella sus labores y habrá de servirles de base para continuar la obra de llevar el mensaje de la salud a los pueblos de las Américas.

