

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS PARA FLAVIVIRUS EN EL PRIMATE *ALOUATTA CARAYA* AUTOCTONO DE LA ARGENTINA

MARTA S. CONTIGIANI, CARINA FERNANDEZ, LORENA I. SPINSANTI, GLADIS E. DIAZ

Laboratorio de Arbovirus y Arenavirus, Instituto de Virología Dr. J. M. Vanella, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba

Resumen Los *flavivirus* constituyen para nuestro país un problema de salud humana. Se conoce que los primates intervienen en el mantenimiento de los virus Dengue y Fiebre Amarilla (FA), pero aún resta dilucidar el papel que desempeñan en el mantenimiento de otros virus con potencial patógeno para humanos y/o animales. Se realizó la detección de anticuerpos para diferentes flavivirus por la prueba de inhibición de hemoaglutinación (IH) en 105 muestras de sueros de monos de la especie *Alouatta caraya*. Por la prueba de neutralización (NT) se confirmaron sólo las infecciones por el virus de la encefalitis de San Luis (ESL). Se encontró una alta prevalencia de anticuerpos IH (35.23%) y NT (32.38%) para este virus mientras que hubo ausencia de anticuerpos indicativos de infección para los virus FA, Dengue y Bussuquara. No pudo ser confirmada la infección por virus Ilheus en estos primates. Estos antecedentes muestran la necesidad de encarar estudios tendientes a detectar infecciones virales nuevas o reemergentes y el papel que desempeñarían los primates en el mantenimiento de las mismas.

Abstract *Seroprevalence of flavivirus in Argentine autochthonous Alouatta caraya primates.* *Flavivirus* constitute a human health problem in our country. Primates are known to participate in the maintenance of Dengue and Yellow Fever viruses. However, these animals play a role which still remains to be determined in the maintenance of other viruses with potential pathogenicity for human beings and/or animals. Detección of antibodies was performed for different *flavivirus* in 105 sera samples of *Alouatta caraya* primates by the hemagglutination inhibition (HI) test. The neutralization (NT) test confirmed only infections caused by St. Louis Encephalitis (SLE) virus with a high prevalence in HI (35.23%) and NT (32.38%) antibodies. No antibody titres indicative of infections by Yellow Fever, Dengue and Bussuquara viruses were registered. Infection by the Ilheus virus could not be confirmed in these primates. There is a need for studies to detect new or reemergent viral infections in Argentina and the role that these primates could play in the maintenance of such infections.

Key words: *flavivirus*, seroprevalence, *Alouatta caraya* primate

El género *flavivirus* de la familia *Flaviviridae*, agrupa a virus transmitidos por artrópodos, los cuales son de importancia en medicina humana¹. En Argentina diversos estudios epidemiológicos demostraron actividad de los *flavivirus* Fiebre Amarilla (FA), encefalitis de San Luis (ESL), Ilheus y recientemente Dengue^{2, 3}. La presencia del virus Bussuquara ha sido detectada aunque con muy baja prevalencia⁴.

El virus ESL se halla ampliamente distribuido en América y constituye un problema grave para la salud pública en Canadá y Estados Unidos, donde la severidad de la enfermedad se incrementa con la edad. Los síndromes clínicos descriptos son: enfermedad febril, meningitis aséptica y encefalitis⁵.

En Argentina este virus circula en diversas provincias con una prevalencia de infección en humanos que varía entre 3 y el 50%⁶. Si bien las cepas aisladas a partir de mosquitos son similares en su ecología a las recuperadas en Norteamérica, sólo se han reconocido casos esporádicos de encefalitis por este agente en nuestro país³.

Con referencia a los reservorios se conoce que los primates intervienen en el ciclo de mantenimiento de los virus Dengue y Fiebre Amarilla, y en Brasil fue aislado el virus ESL de primates centinelas y selváticos del género *Alouatta* y *Ateles*⁷. Aún resta conocer el papel que desempeñan estos primates en el mantenimiento de este virus y de otros arbovirus patógenos para humanos.

En Argentina habitan cuatro especies autóctonas diferentes de monos: mono de noche (*Aotus trivigatus*), mono aullador negro (*Alouatta caraya*), mono aullador rufo (*Alouatta fusca*), mono caí común (*Cebus apella*) y una especie introducida: el mono ardilla (*Saimiri sciureus*) de origen sudamericano⁸. Las infecciones que pueden padecer estas especies no se conocen, aunque todos ellos son susceptibles a la infección por *flavivirus*⁷. En

caso de encontrarse infectados y actuar como portadores sanos, constituirían potencialmente una fuente de infección y/o enfermedad para animales domésticos y el hombre.

La puesta en funcionamiento de la represa hidroeléctrica de Yaciretá (provincia de Corrientes), obligó a la relocalización de los monos aulladores (*Alouatta caraya*) en nuevas áreas, implicando un riesgo para los pobladores y la fauna ya existentes en el lugar, por la transmisión interespecífica de enfermedades infecciosas a través de los vectores que podrían encontrarse.

El objetivo del presente trabajo fue detectar las infecciones por *flavivirus* en primates no humanos de la especie *Alouatta caraya*.

Se estudiaron un total de 105 muestras de sueros obtenidas en el año 1994, de monos de la especie *Alouatta caraya* de su habitat natural (área de la represa de Yaciretá). Las pruebas serológicas empleadas para determinar la presencia de anticuerpos (Ac) fueron: inhibición de la hemoaglutinación (IH) siguiendo los protocolos de Clarke y Casals, modificados para el uso en microtécnica por Shope⁹, y neutralización (NT) de unidades formadoras de placas (ufp) en monocapas de células BHK-21 (derivadas de riñón de hamster lactante), en agarosa⁴.

En la prueba de tamizaje por IH se empleó la dilución final 1:10 de cada suero, que resultó de tratarlos previamente con acetona para eliminar los inhibidores inespecíficos y con glóbulos rojos puros de ganso macho adulto para extraer los aglutinadores inespecíficos. Se utilizaron 4 a 8 unidades hemoaglutinantes de antígenos semipurificados por extracción acetónica de las cepas virales: ESL 78V6507, Ilheus H7445, Bussuquara An 4116, FA 17D, Dengue 2 (New Guinea)⁴. Posteriormente los sueros que resultaron positivos fueron titulados usando diluciones seriadas de factor 2, considerándose como título la mayor dilución de suero que produjo IH total.

En la prueba de NT para el virus ESL se utilizó una suspensión de cerebro de ratón albino suizo infectado al

10% (P/V) de la cepa 78V6507 en medio esencial mínimo con el agregado del 10% de suero fetal bovino y antibiótico. Los sueros fueron descontaminados, inactivados y diluidos de manera que la menor dilución final de la prueba fue de 1/10 para la prueba de tamizaje.

Los sueros que resultaron positivos fueron titulados usando diluciones de factor 2. Se consideró como título neutralizante la mayor dilución de suero que neutralizó el 80% de las unidades formadoras de placas (ufp) incluidas en la prueba.

Los 105 sueros probados resultaron negativos por IH para el virus Bussuquara. Asimismo, 68 sueros, (74.4%) no tenían anticuerpos contra los virus Dengue y Fiebre Amarilla. Los 37 restantes, presentaron anticuerpos para el virus ESL 78V6507, con títulos entre 1/10 y 1/40 (Tabla 1). De ellos, 25 fueron sólo positivos para este virus (reacción monotípica) y 12 presentaron además anti-cuerpos para el virus Ilheus, Dengue y/o FA (reacción heterotípica). Por la prueba de NT se confirmó la infección de los primates por el virus ESL en el 92% de los sueros positivos por IH (34 sueros de 37 positivos por IH) con títulos que variaron en un rango de 1/10 a 1/640 (Tabla 1). La prevalencia detectada por IH fue 35.2% (37/105) mientras que por NT fue 32.4% (34/105), similar a la obtenida previamente en humanos de áreas cercanas al lugar de captura⁴.

La alta prevalencia obtenida en la especie *Alouatta caraya*, sumada a la recuperación del virus ESL de primates centinelas del mismo género en Brasil⁷, sugeriría que los mismos podrían intervenir en el ciclo selvático de mantenimiento de este virus.

Además, si estos animales son concentrados artificialmente en otros lugares o re-localizados en nuevas áreas (como lo sucedido en esta última década por la construcción de represas), esta infección zoonótica podría, por la infección de huéspedes susceptibles, provocar modificación en su comportamiento patógeno. Esto estaría en concordancia con los hallazgos previos de aislamiento de variedades de virus ESL dependientes del huésped del que fueron aislados¹⁰.

TABLA 1.- Títulos de anticuerpos inhibidores de hemoaglutinación y neutralizantes de sueros positivos para el virus ESL en la prueba de tamizaje por inhibición de hemoaglutinación (IH) en primates

	IH		Títulos neutralizantes								N° positivos
	N° positivos	Título*	< 10 ^a	10	20	40	80	160	320	640	
	16	10	2 ^b	6	1	4	2	1	0	0	14
	18	20	1 ^c	2	2	3	5	4	0	1	17
	3	40		0	0	0	1	2	0	0	3
Total	37	-	3	8	3	7	8	7	0	1	34

^a < 10: negativo, ^b Reacción heterotípica en IH, ^c Reacción monotípica en IH. * Los títulos son expresados como las recíprocas de las diluciones de los sueros

De la actividad de los otros *flavivirus*, la única duda que persiste es la de dos sueros con reacción heterotípica para virus Ilheus y ESL y que no fueron confirmados para este último por NT.

En cuanto a los virus FA y Dengue, los cuales se conoce tienen como reservorio a primates del nuevo mundo, los resultados obtenidos indican que esta especie de monos no se encontraba infectada por estos agentes en el momento del muestreo.

Bibliografía

1. Westaway EG, Brinton MA, Gaidamovich S, et al. Flaviviridae. *Intervirology* 1985; 24: 183-92.
2. Avilés G, Rangeón G, Vorndam V, et al. Dengue reemergence in Argentina. *Emerging Infections Disease* 1999; 5: 575-8.
3. Sabattini MS, Avilés G, Monath TP. Historical, epidemiological and ecological aspects of arbovirus in Argentina: Flaviviridae, Bunyaviridae and Rhabdoviridae. In: APA Travassos da Rosa, et al. (eds). Overview of arbovirology in Brasil and neighboring countries. Belén: Instituto Evandro Chagas, 1998, p 113-34.
4. Glowacki G, Spinsanti L, Basualdo MA, Díaz G, Contigiani M. Prevalencia de anticuerpos contra Flavivirus en jóvenes voluntarios ingresantes al servicio militar de la Provincia de Formosa, Argentina. *Rev Arg de Microb* 1998; 30: 170-5.
5. Calisher CH. Medically important Arboviruses of the United States and Canada. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7: 89-116.
6. Sabattini MS, Monath TP, Mitchell CJ, et al. Arbovirus Investigation in Argentina, 1977-1980. I. Historical Aspects and Description of Study Sites. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 937-44.
7. Jorge FS, Emanuel NF. Epidemiología do virus da encefalite de San Luis na Amazonia. Simposio Internacional sobre Arbovirus dos Tropicós e Febres Hemorrágicas. Belén-Pará-Brasil, 1980, p 379.
8. Cabrera A, Yepes J. Los Aluatinos. In: Cabrera, A; Yepes J (eds). Mamíferos Sudamericanos. 2nd Ed. Buenos Aires: Ed. Ediar; 1960, p 106-9.
9. Shope RE. The use of a microhemagglutination inhibition test to follow antibody responses, after arthropod-borne virus infection in a community of forest animals. *Ann Microb* 1963; 2: 167-72.
10. Iversson LB. Situação atual do conhecimento eco-epidemiológico sobre arbovirus patogênicos para o homem na região da mata do estado de São Paulo. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1994; 36: 344-6.

Yo creo que no debemos vivir la vejez recordando el tiempo pasado, sino haciendo planes para el tiempo que nos queda, ya sea un día, un mes o varios años, con la esperanza de poder realizar unos proyectos que no habíamos podido acometer en los años juveniles.

Rita Levi Montalcini
(Premio Nobel de Medicina 1986)

El as en la manga. Barcelona: Critica, 1999, p 18
(traducción de *L'asso nella manga a brandelli*. Milán: Baldini & Castoldi, 1998)