

ENCEFALITIS POR VIRUS SAN LUIS EN LA CIUDAD DE BUENOS AIRES DURANTE EL BROTE DE DENGUE 2009

HORACIO LOPEZ^{1, 2}, JORGE NEIRA², MARÍA ALEJANDRA MORALES³, CINTIA FABBRI³,
MARÍA LAURA D'AGOSTINO^{1, 2}, TERESA ZITTO^{1, 2}

¹Centro de Infectología – Institución Afiliada a la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires,

²Sanatorio de la Trinidad Palermo, ³Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. J. Maiztegui,
ANLIS Dr. Carlos G Malbrán, Pergamino, Buenos Aires

Resumen Se presenta un paciente de 80 años de edad, residente en la Ciudad de Buenos Aires, con diagnóstico serológico para el virus de la encefalitis de San Luis (SLE) durante el brote de dengue ocurrido entre enero y mayo de 2009. Presentaba leucemia linfocítica crónica en tratamiento con clorambucilo, cáncer de próstata tratado con hormonoterapia y radioterapia, e imágenes óseas compatibles con metástasis. El estudio del líquido cefalorraquídeo demostró pleocitosis con predominio de mononucleares y proteinorraquia elevada. El resultado de los cultivos para bacterias, hongos y micobacterias, así como el PCR en LCR para herpes virus, HSV, CMV y EBV, fue negativo. Se detectaron anticuerpos IgM para virus SLE tanto en LCR como en muestra de suero, con seroconversión IgG por neutralización en cultivos celulares y resultados negativos para los demás *Flavivirus* con circulación en Argentina. Se revisan evidencias sobre la presencia de virus de San Luis en nuestro país, y se señala la importancia de la confirmación diagnóstica y el estudio de otros *Flavivirus* en casos sospechosos de dengue con presentación grave o atípica. Este trabajo remarca la necesidad de fortalecer tanto la vigilancia epidemiológica del virus SLE, como el control vectorial para prevenir las diferentes infecciones transmitidas por mosquitos y conocer su efecto en Salud Pública en la Argentina.

Palabras clave: encefalitis San Luis, *Flavivirus*, mosquitos, anticuerpos

Abstract Saint Louis encephalitis virus in Buenos Aires city during the outbreak of dengue in 2009

We report the case of a male, 80-year-old resident in the City of Buenos Aires, with a diagnosis of St. Louis encephalitis (SLE) during a countrywide dengue outbreak, from January to May 2009. The patient had a chronic lymphocytic leukemia treated with chlorambucil, prostate cancer (hormone therapy and radiotherapy) and images consistent with bone metastases. Cerebrospinal fluid examination showed pleocytosis with a predominance of mononuclear cells and high protein concentration. Bacteria, fungi and mycobacteria cultures, as well as the PCR for herpes virus, HSV, CMV and EBV, were negative. We confirmed the diagnosis of SLE by detection of IgM antibodies in both CSF and serum sample with IgG seroconversion by neutralization in cell cultures and negative results for other flaviviruses with known circulation in Argentina. We review the evidence for the presence of the St. Louis virus in our country and point to the importance of the diagnosis and the search of other *Flavivirus* in suspected dengue cases with severe or atypical presentation. This work emphasizes the need to strengthen both the epidemiological surveillance of SLE, and vector control to prevent different infections transmitted by mosquitoes and to understand their true impact on public health in Argentina.

Key words: Saint Louis encephalitis, *Flavivirus*, mosquito-borne infections, antibodies

El virus de la encefalitis de San Luis fue detectado por primera vez en 1939 en la ciudad del mismo nombre en EE. UU. Este agente viral pertenece al género *Flavivirus* y forma parte del complejo serológico de la encefalitis japonesa, junto con otros agentes virales que se caracterizan por ser neurotrópicos para el hombre y algunos

animales. Se trata de un agente zoonótico transmitido principalmente por artrópodos. Dentro de EE.UU. el ciclo biológico del virus implica mosquitos del género *Culex* spp, especies de pájaros de los órdenes *Columbiformes* y *Paseriformes* como los reservorios vertebrados. Hay evidencias de que los ciclos de transmisión ecológicos pueden variar en distintas regiones¹. En general, las infecciones se presentan en los meses cálidos, cuando es probable el contacto con el vector. Si bien en Argentina existe escaso conocimiento sobre los ciclos de transmisión viral, un ciclo urbano expandido podría producirse con mosquitos *Cx. quinquefasciatus* y gorriones, palomas y/o gallinas².

Recibido: 19-V-2010

Aceptado: 24-VIII-2010

Dirección postal: Dra. Teresa Zitto, Centro de Infectología-Institución Afiliada a la Facultad de Medicina de la UBA, Pacheco de Melo 3068, 1425 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4804-0680 e-mail: 1hlopez@arnet.com.ar

Este virus se ha asociado a brotes periódicos de encefalitis especialmente en EE.UU. y México, con casos esporádicos en otros países de América³. En la Argentina, según los estudios serológicos realizados, la distribución del virus SLE es amplia, siendo la prevalencia de la infección entre el 3% y el 50% en la población general⁴. Sin embargo, los casos de encefalitis no son frecuentes y se han diagnosticado sólo esporádicamente hasta el 2005, año en que se detecta el primer brote de tipo epidémico en la Argentina⁵.

El riesgo de enfermedad sintomática y de casos fatales está asociado con la edad avanzada, siendo la relación de 85:1 en adultos mayores de 60 años y en huéspedes inmunocomprometidos⁶. Las manifestaciones neurológicas tales como astenia, labilidad emocional, ansiedad, irritabilidad, olvido, temblor, vértigo e inestabilidad, pueden persistir durante meses. La tasa de mortalidad global es de 8% y en los adultos mayores puede llegar a 20%⁷. Se presenta un caso de SLE en la Ciudad de Buenos Aires, diagnosticado en 2009 durante el brote de Dengue en el país, que incluía casos autóctonos en el área Metropolitana de Buenos Aires⁸ y la importancia que tiene la confirmación diagnóstica de otros *Flavivirus*, en este contexto epidemiológico.

Caso clínico

Se trata de un varón de 80 años de edad, que ingresó al Sanatorio de la Trinidad Palermo en marzo de 2009 por síndrome febril de 48 h de evolución, parcialmente orientado, bradipsíquico y sin otras evidencias de hallazgos patológicos al examen físico.

El paciente residía en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Villa Devoto) y no había realizado viajes al interior y exterior del país en los últimos meses. Como antecedentes personales a destacar, presentaba leucemia linfóide crónica en tratamiento con clorambucilo y cáncer de próstata, para el cual había recibido hormonoterapia y radioterapia. Tenía imágenes óseas compatibles con metástasis, y cirugía de revascularización miocárdica 20 años atrás.

A las 24 h del ingreso, el paciente evolucionó con registros febriles, progresivo deterioro del sensorio, tendencia al sueño, desorientación temporoespacial y rigidez de nuca. Se inició tratamiento antibiótico con ceftazidima, ampicilina y aciclovir, cubriendo los microorganismos prevalentes de meningoencefalitis.

El líquido cefalorraquídeo (LCR) presentó aspecto claro; glucosa 68 mg/dl; proteínas 101 mg/dl y 230 leucocitos/mm³ (100% mononucleares).

Los test de aglutinación de partículas de látex para *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* tipo B, fueron negativos. El examen directo con coloración de Gram fue negativo, la coloración de Ziehl Neelsen no evidenció presencia de BAAR y la tinta china para criptococo fue negativa. Los cultivos del LCR para bacterias, micobacterias y hongos, resultaron negativos. Los hemocultivos y las PCR en el LCR para virus herpes simple, citomegalovirus y virus de Epstein Barr, también fueron negativos.

En la resonancia magnética nuclear de cerebro no se evidenciaron imágenes patológicas agudas, ni realce con la administración de gadolinio, ni procesos isquémicos agudos

en la difusión. El electroencefalograma evidenció trazado desorganizado, sin focos ni paroxismos.

El paciente evolucionó con lenta mejoría de su cuadro neurológico, con rigidez generalizada y temblor en miembros superiores, persistiendo desorientado en tiempo y espacio y respondiendo a órdenes simples, a la semana de su ingreso.

En la segunda punción lumbar al 7° día, el líquido fue claro con presión de apertura de 22 cm de agua, recuento de leucocitos de 85/mm³ (100% de mononucleares), glucorraquia de 72 mg/dl y proteinorraquia de 74 mg/dl.

Dado que este caso se presenta en un momento en que estaba confirmada la circulación autóctona de virus dengue en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y en la provincia de Buenos Aires⁹, se envió muestra de suero y LCR al Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas (INEVH) Dr. J. Maiztegui, para el diagnóstico de dengue y otros *Flavivirus* asociados a encefalitis virales reconocidos en la Argentina, SLE y virus Nilo Occidental (WN)¹⁰. Se señala el antecedente de que el paciente no había recibido vacunación contra fiebre amarilla.

La detección de anticuerpos IgM para los *Flavivirus* mencionados fue realizada en muestras de suero y LCR mediante la técnica de ELISA de captura de anticuerpos (MAC-ELISA) adaptada del protocolo desarrollado por Kuno et al¹¹. Las muestras de suero fueron también procesadas por la técnica de neutralización (NT) en la línea celular VERO C76 al 90% de reducción de placas para detectar conversión serológica entre sueros obtenidos en el período agudo y convaleciente. La evaluación de reacciones cruzadas entre *Flavivirus*, se realizó por comparación de los títulos de anticuerpos obtenidos por la técnica de neutralización, frente a un panel de agentes con actividad reconocida en las diferentes áreas de la Argentina. Se emplearon las cepas de referencia de virus DEN: DEN-1 Hawaii, DEN-2 New Guinea, DEN-3 H87, DEN-4 H241 y la cepa vacunal 17D (YEL) de Fiebre Amarilla (YF). Con relación a los virus SLE y fiebre del Nilo Occidental (WN), se emplearon los virus *químicos* ChimeriVax TM SLE y ChimeriVax TM WN, respectivamente.

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos por las técnicas serológicas que permitieron la identificación de la etiología por el virus SLE. Las muestras estudiadas correspondieron a un par serológico, obtenidas a los 9 y 30 días de evolución desde el inicio de los síntomas. Se descartaron las etiologías por virus DEN, WN y YF.

Se realizó la notificación del caso al Departamento de Epidemiología de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) para las acciones de control de foco.

El paciente fue derivado a un centro de tercer nivel, para continuar con la rehabilitación kinésica - motora.

Discusión

En el caso de encefalitis viral que se presenta, se descartaron causas frecuentes, como las infecciones por virus herpes, CMV y EBV; pero dada la edad del paciente, el estado de inmunocompromiso por las enfermedades de base y los tratamientos quimioterápicos, se solicitó además el estudio de los virus SLE y WN ya que existen evidencias que demuestran la circulación de estos agentes en diversas provincias de la Argentina¹⁰.

Se investigó el virus DEN, dado que este caso se detectó durante el brote de dengue ocurrido en nuestro país entre enero y mayo de 2009, cuando se notificaron alrededor de 26 000 casos autóctonos confirmados, la

TABLA 1.— Resultados de las técnicas serológicas para la detección de anticuerpos IgM y neutralizantes para encefalitis por virus de San Luis (SLE)

Muestra	D.P.I.*	ELISA IgM			PRNT 90					
		SLE	WN	DEN	SLE	WN	DEN-1	DEN-2	DEN-3	DEN-4
S1	9	+	-	-	20	<20	<20	<20	<20	<20
S2	30	nr	nr	nr	160	<40	<40	<40	<40	<40
LCR	9	9	9	9	nr	nr	nr	nr	nr	nr

* D.P.I.: días desde el inicio de los síntomas; PRNT 90: reducción de placas al 90% por técnica de neutralización; S: suero; LCR: líquido cefalorraquídeo; WN: virus del Nilo Occidental; DEN: Dengue; YF: Fiebre amarilla; nr: no realizado.

mayoría de ellos habitantes de las provincias del Norte. En la provincia de Buenos Aires se confirmaron sólo 14 casos y en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 20⁹.

Entre el 1% al 5% de los enfermos con dengue pueden presentar manifestaciones neurológicas tales como cefalea, trastornos de conciencia pasajeros, vértigo, alucinaciones, convulsiones febriles, encefalopatía, encefalitis, meningismo, Guillain-Barré, mielitis transversa, neuritis óptica, encefalomiелitis aguda diseminada, ataxia post-dengue, psicosis, depresión y amnesia^{12, 13}. Estas manifestaciones pueden ocurrir en cualquier momento de la evolución de la enfermedad, tanto con el dengue clásico como con el hemorrágico.

Si bien este caso se detectó en un contexto epidemiológico de brote de dengue confirmado en la región, situación en la cual el diagnóstico de los casos es fundamentalmente clínico, este trabajo señala la importancia de realizar la confirmación diagnóstica cuando se presenten casos sospechosos de dengue con manifestaciones neurológicas, graves o de expresión poco frecuente en esta enfermedad.

En la Argentina, ha sido demostrada la circulación del virus SLE desde 1964, pero hasta 2002 fueron notificados casos esporádicos de esta enfermedad^{14, 15}. En el año 2005, en la provincia de Córdoba se notificó un brote de 48 casos confirmados, 8 de los cuales fueron fatales, hecho que significó un cambio epidemiológico importante de esta entidad en nuestro país¹⁶.

Entre los años 2006 y 2008, la vigilancia epidemiológica de laboratorio de las encefalitis por *Flavivirus* permitió la detección de 33 casos humanos por el virus SLE en diversas provincias de Argentina, incluyendo CABA y la provincia de Buenos Aires¹⁷.

Se considera importante jerarquizar esta enfermedad que puede representar un riesgo epidémico potencial, por existir evidencias de actividad viral en humanos, vertebrados y mosquitos de diversas provincias de Argentina.

Este trabajo señala la necesidad de fortalecer la vigilancia del virus SLE en los cuadros febriles con manifestaciones neurológicas, realizar la investigación

epidemiológica de los casos detectados a fin de orientar las estrategias de control vectorial y conocer el verdadero efecto de este agente para la Salud Pública en la Argentina. Por otro lado, la falta de una terapéutica específica y la carencia de vacunas remarca la necesidad de instruir a la población sobre las medidas de protección personal y ambiental, para disminuir el riesgo de exposición al vector.

Conflictos de interés: los autores declaran no tener conflictos de interés respecto de esta publicación.

Bibliografía

1. Reisen WK. Epidemiology of St. Louis encephalitis virus. *Adv Virus Res* 2003; 61: 139-43.
2. Díaz LA, Almirón WR, Ludueña Almeida F, et al. Vigilancia del virus Encefalitis de San Luis y mosquitos en la provincia de Córdoba, Argentina. *Entomol Vectores* 2003;10: 551-66
3. Solomon T. Flavivirus Encephalitis. *N Engl J Med* 2004; 351: 370-8.
4. Spinsanti LI, Basquiera A, Bulacio S, et al. St. Louis encephalitis in Argentina: the first case reported in the last seventeen years. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 271-3.
5. Spinsanti LI, Díaz LA, Glatstein N, et al. Human outbreak of St. Louis encephalitis detected in Argentina, 2005. *J Clin Virol* 2008; 42: 27-33.
6. Luby JP, Miller G, Gardner P, et al. The epidemiology of St Louis encephalitis in Houston, Texas, 1964. *Am J Epidemiol* 1967; 86: 584-97.
7. Azar GJ, Bond JO, Chappell GL, Lawton AH. Follow-up studies of St Louis encephalitis in Florida: Sensorimotor findings. *Am J Public Health* 1966; 56: 1074-81.
8. Seijo A, Romer Y, Espinosa M, et al. Brote de dengue autóctono en el área metropolitana Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)* 2009; 69: 593-600.
9. Brote de dengue en Argentina, enero-mayo de 2009. Presentación de los datos por las provincias. Ministerio de Salud de la Nación, Argentina. En: <http://www.msal.gov.ar/htm/site/pdf/BroteDengueArgentina.pdf> consultado el 13/12/2009.
10. Morales MA, Barrandeguy M, Fabbri C, et al. Isolation of West Nile virus (WN) from equines in Argentina, 2006. *Emerg Infect Dis* 2006;12: 1559-61
11. Kuno G, Gomez I, Gubler DJ. Detecting artificial anti-dengue IgM immune complexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med and Hyg* 1987; 36: 153-9.

12. Brito ML, Gómez C, Alvarenga C, Dornelas S. Manifestaciones neurológicas de dengue. Estudio de 41 casos. *Arg Neuropsiquiatr* 2005; 63: 488-93.
13. Rodríguez J. Manifestaciones neurológicas del dengue. *Acta Neurol Colomb* 2008; 24: S73-S75.
14. Durlach RA, Astarloa L. Meningoencefalitis por virus de encefalitis de San Luis. *Medicina (Buenos Aires)* 1985; 45: 467-8.
15. Spinsanti L, Re V, Basualdo MA, et al. Seroprevalencia de infección por el virus encefalitis San Luis en la provincia de Formosa. *Medicina (Buenos Aires)* 2000; 60: 474-6.
16. Arselán SD, Cevallos Recalde MF, Abril ML, Brarda M. Encefalitis por el virus de San Luis en la provincia de Córdoba: comunicación sobre nueve casos de un brote en el año 2005. *Revista Argentina de Zoonosis* 2006; 3: 17-20.
17. Morales MA, Fabbri C, Euliarte C, et al. Enfermedad neurológica humana por los virus Nilo Occidental (WNV), Encefalitis de San Luis (SLEV) y asociada a la vacuna 17 D de fiebre amarilla (Yel-And) en Argentina, 2006-2008. Libro de resúmenes del IX Congreso Argentino de la Sociedad Argentina de Infectología 2009; abstract 24792.

A scientist as he grows older, may go one of several ways. He may, and many do, withdraw from the laboratory and turn to something else. Possibly he will remove no farther than to supervise the work of younger colleagues. He may assume the direction of a large laboratory, perhaps one of the grand institutions. He may start to write books. He may be taken up to deliberate at the committee tables, to murmur down the telephones of the politics of big science. The scientist will offer various reasons for the change, but an underlying fact is that active research demands so much uninterrupted time, such stamina, such intense concentration.....because to do good molecular biological experiments you have to be in the lab day and night; you just can't do it on an eight-hour day. It's just not possible.

Al entrar en años, el investigador puede tomar distintos caminos. Puede, y muchos lo hacen, dejar el laboratorio y dedicarse a otra cosa. Posiblemente no vaya muy lejos y se dedique a supervisar el trabajo de sus colaboradores más jóvenes. Puede asumir la dirección de un importante laboratorio, tal vez de una gran institución. Puede empezar a escribir libros. Puede verse envuelto en mesas de comités, en conversaciones telefónicas con políticos de la ciencia. El investigador dará muchas razones para explicar el cambio pero la razón de fondo es que hacer investigación activamente demanda tanto tiempo, tanta stamina, tan intensa concentración.....porque para hacer experimentos en biología molecular y hacerlos bien se necesita estar en el laboratorio día y noche, no se lo puede lograr con ocho horas diarias. Es completamente imposible.

Horace Freeland Judson

The eighth day of creation. The makers of the revolution in biology. New York: Simon & Schuster, 1979, p 493