

Investigación Clínica. N° 20. Págs. 23-32. Diciembre. 1966.

PREVALENCIA DE ALGUNOS ECHOVIRUS
EN UN SECTOR DE LA POBLACION INFANTIL
DE MARACAIBO, VENEZUELA

— **Dr. Armando Soto Escalona**

Jefe de la Sección de Virología.
Instituto de Investigación Clínica.
Facultad de Medicina.
Universidad del Zulia.
Maracaibo.

— **Dra. Nancy Angulo**

Adjunto Residente.
Departamento de Pediatría.
Hospital Universitario.
Maracaibo.

— **Dra. Luz Mila Suárez**

Adjunto Residente.
Departamento de Pediatría.
Hospital Universitario.
Maracaibo.



La gastroenteritis o diarrea aguda febril, ocupa lugar primordial en la mortalidad general de Venezuela; permaneciendo como primera causa de muerte general hasta 1960¹, con un promedio de 4375 defunciones diagnosticadas anualmente entre 1925 y 1960^{1, 19}.

La ingerencia de los virus como causa de gran cantidad de diarreas a las cuales no se encontraba etiología conocida, fue sospechada desde algún tiempo. Light y Hodes¹⁶ reportaron la existencia de un agente filtrable en las heces de pacientes diarreicos humanos; pudiendo hacer 29 pasajes seriados inoculándolos en terneras. Higgins¹² observó que a pesar de los más escrupulosos exámenes bacteriológicos y parasitológicos, al 65% de los pacientes diarreicos no se le pudo asignar un agente etiológico. Estos cuadros fueron los llamados "gastroenteritis epidémica no bacteriana" por Gordon¹⁰ y "disentería viral" por Reiman²³. En nuestro medio, Briceño Iragorry² encontró, en casos infantiles de "diarreas y enteritis", un 48.44% de bacteriología positiva. Oropeza y col.²⁰ reportaron un 21% de bacterias positivas en coprocultivos, serorreacciones y exudados faringeos. Méndez y Briceño Iragorry¹⁸ pudieron aislar bacterias en un 64.2%. Briceño Iragorry y Fossaert³ publicaron el reporte de 163 coprocultivos positivos sobre 3202 estudiados; lo que representa un 5%. En general, los estudios en diarreas siempre han dejado un porcentaje relativamente alto de casos sin agentes etiológicos evidentes; lo que ha hecho interesar a los virólogos en el problema. Este interés fue activado al descubrir Sabin²⁶ que los enterovirus pueden ser aislados del intestino del niño a partir del cuarto día de nacido. Young y col.³² encontraron sólo dos casos completamente negativos en un estudio hecho con veinte portorriqueños; en doce se aislaron ECHO y coxsackievirus; en ocho se evidenciaron coliformes patógenos; en uno había *Salmonella sandiego*; en uno,

Shigella sonnei; y en cuatro, fueron encontrados protozoarios patógenos. Eichenwald y col.⁸ demostraron que los virus pueden desencadenar diarreas epidémicas, al evidenciar el ECHOvirus 18 en un brote epidémico en lactantes. Ramos Alvarez y Sabin²² presentaron evidencias de que varios ECHOvirus (tipos 2,6,7,8 y 11) pueden ser implicados como causantes de diarreas infantiles. Núñez Montiel y col.¹⁹ estudiaron 298 casos de gastroenteritis de los cuales 110 fueron positivos para virus, identificándose los ECHOvirus 1, 2, 6, 7, 8, 11, 13, 14 y 17; los coxsackie A9 y B5 y los tres serotipos de poliovirus. Recientemente han sido publicados otros trabajos que dan cifras demostrativas de la acción de los enterovirus como causa de gastroenteritis, ya solos o en combinación con enterobacterias. Entre éstos, tenemos el trabajo de D'Alessandro y Dardanoni⁶.

Como continuación de los estudios locales, se decidió hacer una encuesta serológica en una muestra de la población sana de Maracaibo, que fue uno de los sitios de anteriores estudios virológicos en pacientes diarreicos¹⁹. Se seleccionaron cinco serotipos virales; a saber: los ECHOvirus 7 y 8, aislados frecuentemente; ECHOvirus 6, aislado esporádicamente; y ECHOvirus 9 y 19, no aislados en Venezuela.

MATERIAL Y METODO

Se colectaron sueros de niños aparentemente sanos, en el Hospital Universitario de Maracaibo y en el personal auxiliar del mismo. Las edades oscilaron entre los doce días y los veinte años, dividiéndose en diez grupos etáreos considerados así: los grupos 1 a 7 abarcan un solo año cada uno; el grupo 8 cubre desde los 7 años un día, hasta los diez años de edad; el grupo 9 comprende las edades entre diez años y un día, hasta los quince años; y el grupo diez toma el lapso entre los quince años y un día, hasta los veinte años. La cantidad de muestras varió ligeramente entre los grupos etáreos los cuales fueron como sigue: grupo 1, 11 muestras; grupo 2, ocho; grupo 3, diez; grupo 4, nueve; grupo 5, nueve; grupo 6, diez; grupo 7, doce; grupo 8, trece; grupo 9, siete; y grupo 10, diez. En total, se estudiaron 99 muestras. La colecta de sueros encontró serias dificultades, como la selección adecuada de niños y adolescentes que pudiesen ser considerados realmente sanos, o al menos, que no padeciesen alguna enfermedad infectocontagiosa, ni fuesen convalecientes.

Se utilizó la desviación de complemento para la detección de anticuerpos, con diluciones progresivas de los sueros problemas contra una dilución óptima de antígeno viral. Los eritrocitos de carnero fueron lavados en solución de Alserver modificada y utilizados hasta por quince días. El complemento fue obtenido por punción cardíaca de grupos de seis o siete cobayos, envasado en ampollas de 1 ml., y congelado a -30°C . Cada ampolla se usó una sola vez. En estas condiciones el complemento conserva su poder por tres semanas. Se utilizó hemolisina comercial (Difco) preservada en 50% de glicerina. Como antígenos se usaron las cepas virales siguientes: ECHO 6, cepa D'Amori; ECHO 7, cepa Garnett; ECHO 8, cepa HEV-2; ECHO 9, cepa HEV-3; y ECHO 19, cepa Burke. Todas, cultivadas en células de riñón de mono. Como diluyente de los antígenos se utilizó la solución balanceada de Hanks^{7, 30}. Para la dilución de sueros problemas, los eritrocitos de carnero y la hemolisina, se empleó solución salina amortiguada de veronal¹³ a un pH de 7.4. La hemolisina fue titulada por el método de Kabat y Mayer¹³; y el complemento, por el método de Machado y Guerreiro. Los resultados se obtuvieron de acuerdo a la fórmula de von Krogh^{11, 29, 30}. Se tomaron diluciones de los sueros desde 1/2 hasta 1/512. A 0.1 ml de cada dilución se le añadió 4 unidades C'H50 de complemento y 0.1 ml del antígeno viral estudiado. Se incubó a 4°C por 16 horas, al cabo de lo cual se le añadió el sistema hemolítico en cantidades de 0.2 ml. por tubo. Los resultados se leyeron treinta minutos más tarde.

RESULTADOS

De 99 muestras estudiadas, se encontraron anticuerpos para uno o más ECHOvirus en 58 (Fig. 1). Veintinueve presentaron anticuerpos para un solo virus; 14, para dos virus; y 15, para más de dos virus. En total se detectaron 113 títulos de anticuerpos en los 58 sueros positivos, de los cuales los más frecuentes pertenecen al ECHO 7 con un total de 31, o sea 27.4% (Fig. 2). Para el ECHO 8 hubo 29 títulos presentes, lo cual representa el 25.6% de las muestras positivas. Se encontraron 22 títulos para cada uno de los ECHO 9 y 19, lo que corresponde al 19.4%, y, finalmente, los más escasos fueron los correspondientes al ECHO 6 con solo 9, lo que representa el 7%. Para todos los virus se

MUESTRAS NEGATIVAS			41	41%
MUESTRAS POSITIVAS	con un anticuerpo	29	58	59%
	con dos anticuerpos	14		
	mas de dos anticuerpos	15		
TOTAL			99	100%

Fig. 1.

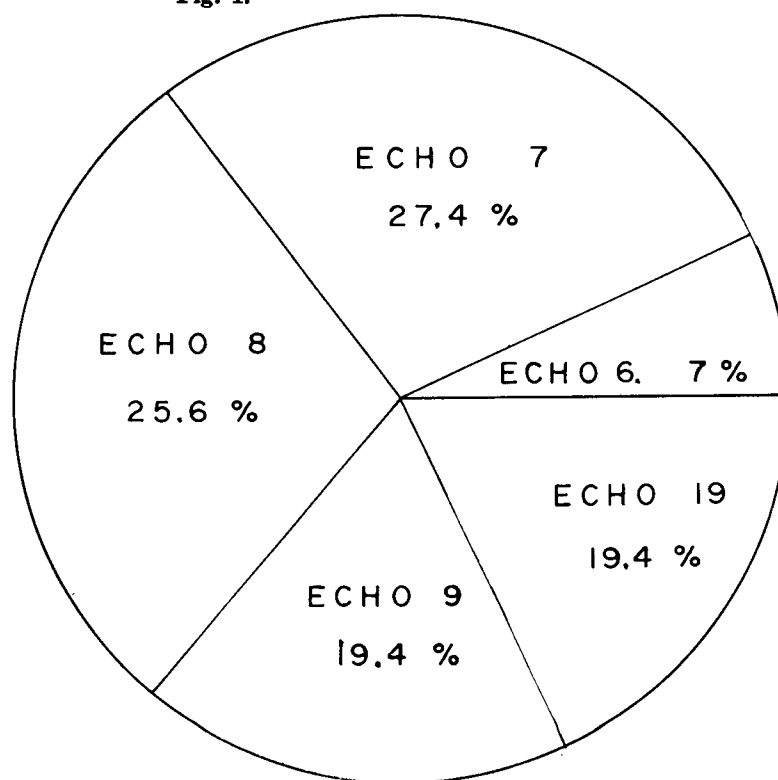


Fig. 2.

obtuvo un ligero predominio de las hembras, llamando especialmente la atención que hubo siempre una proporción de 1: 1.1 en la relación varón: hembra.

La frecuencia de casos positivos siguió una curva similar para casi todos los virus estudiados (Fig. 3), con excepción del anti-ECHO 6 que dio una curva chata e irregular. La curva asciende bruscamente durante la primera infancia, para luego descender también bruscamente en la segunda infancia; luego hace un segundo ascenso a partir del quinto año de vida, el cual también cae para hacerse negativa en el grupo diez; o sea, entre los 15 y 20 años de edad. Los anticuerpos para los ECHO 7 y 8, que a su vez son los más frecuentes, son muy similares en la producción de esta curva: ascenso en la primera infancia, caída brusca en la segunda infancia, luego nuevo ascenso entre el quinto y sexto año, para caer nuevamente. Los anticuerpos para el ECHO 9 hacen un pico muy agudo en la primera infancia y otro entre el tercer y quinto año, y los anticuerpos para el ECHO 19 hacen un primer pico trunco con su descenso hasta el quinto año y luego un segundo pico hasta el séptimo año con su consecuente caída final.

DISCUSION

Se tiene el concepto de que los anticuerpos de desviación de complemento son producto de infecciones recientes, ya sean sintomáticas o inaparentes. En estudio sobre pacientes poliomiélicos¹⁷, titulando los anticuerpos neutralizantes y los de desviación de complemento, se ha observado que estos últimos son los primeros en aparecer, seguidos por los neutralizantes; pero caen rápidamente. En cambio los neutralizantes permanecen por largo tiempo y se puede considerar que de por vida. Por lo tanto, en caso de epidemias, el diagnóstico etiológico de enfermedad se puede obtener por la titulación de los anticuerpos fijadores de complemento.

Ya hay sospecha de que los enterovirus existen en forma endémica en nuestra población. Por lo tanto, la titulación de anticuerpos neutralizantes de los ECHOvirus daría probablemente curvas ascendentes que alcanzarían sus cifras máximas al final de la segunda infancia, como fue observado con los poliovirus por Coriell y col.⁵, quienes encontraron anticuerpos neutralizan-

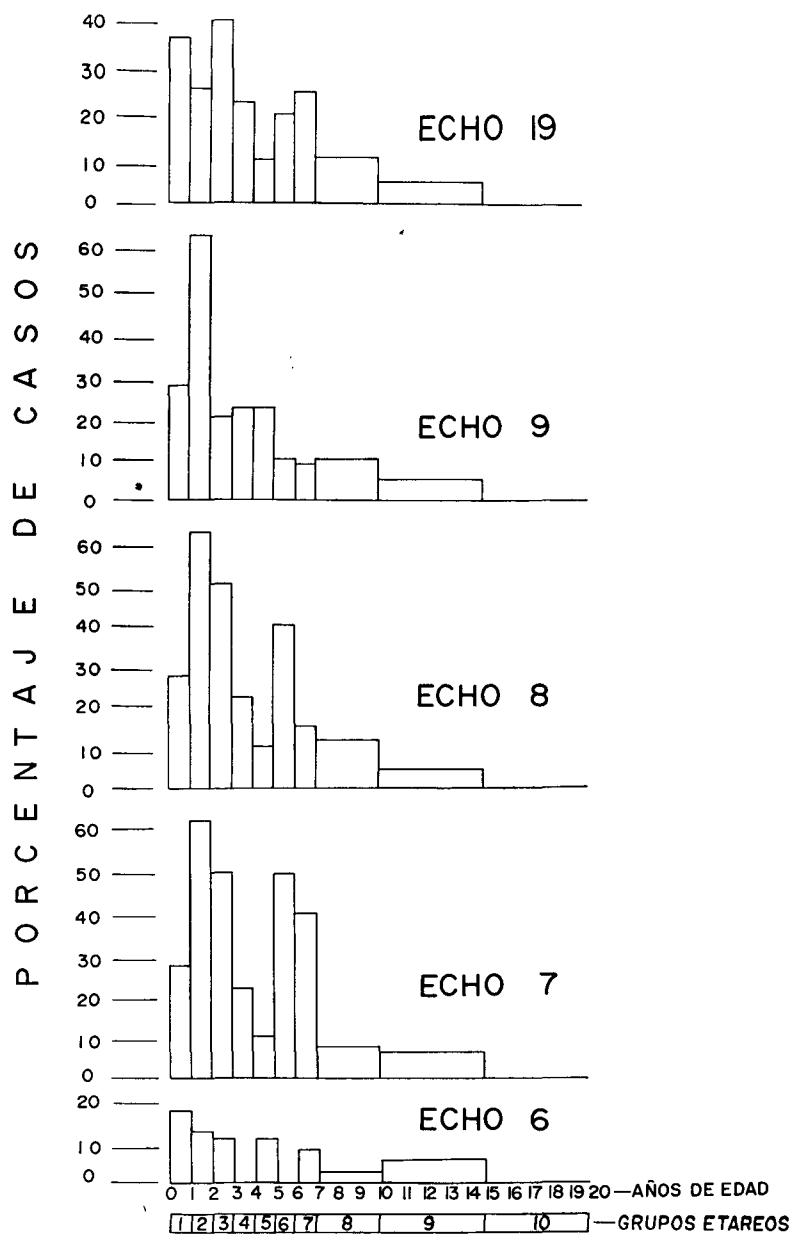


Fig. 3.

tes en un 80 a 100% de los niños de seis años de edad en la ciudad de Caracas. Estudios sobre ECHOvirus en otros países, han dado curvas ascendentes en relación directa con la edad¹⁵. En zonas de alta endemicidad como Marruecos francés²¹, se observó que los títulos de anticuerpos neutralizantes de los poliovirus ascienden rápidamente alcanzando cifras máximas a los cuatro años de edad; por el contrario, los anticuerpos de fijación de complemento hacen un ascenso en curva chata entre la primera y segunda infancia, para caer progresivamente hasta hacerse negativa en la pubertad. Los pobladores son masivamente infectados en los primeros años de vida haciendo una sólida inmunidad; lo que hace casi imposible reinfecciones en la juventud y el adulto. En conclusión, se pueden interpretar los títulos de fijación de complemento, como los anticuerpos de post-infección. Por lo tanto las curvas mostradas aquí revelan que existen dos períodos de fuerte infección: el primero ocurre en la primera infancia, que es cuando el niño sufre los cuadros diarréicos graves, especialmente condicionado por la virginidad del organismo; es el que podemos llamar "pico familiar". Luego hay un segundo pico en la iniciación del período escolar, entre los cinco y seis años, en que el niño, aunque con anticuerpos circulantes, se expone de nuevo a un aporte aparentemente más fuerte, y hace el segundo pico inmunitario que se consideraría como "pico social".

Estos resultados confirman estudios anteriores sobre aislamiento de enterovirus¹⁹, en los que los ECHOvirus 7 y 8 fueron los más frecuentes. Los otros tres serotipos, seleccionados para el presente trabajo por no haber sido aislados, dieron valores menores. Nos llama la atención que justamente son también los anticuerpos para los ECHO 7 y 8 los que dieron las dos curvas semejantes y más regulares. En especial, hay que observar que los valores irregulares del ECHO 6, virus que se ha reportado como causante de síndromes neurológicos y de algunas epidemias⁴, indican que el virus parece existir en la comunidad.

No se pudieron demostrar reacciones cruzadas entre los enterovirus estudiados, aunque han sido reportadas por otros autores²⁷. Una revisión cuidadosa sobre la coexistencia permanente de dos o más anticuerpos en las mismas muestras, dio resultados negativos; o sea, que la presencia de un anticuerpo no siempre traía aparejado la presencia constante o incremento de otro. Por

lo tanto, la igualdad de porcentajes entre el ECHO 9 y 19, se considera mera casualidad. Un fenómeno aún inexplicable y que posiblemente sea casual, es la relación varón: hembra (1:1.1). Las relaciones reportadas previamente por otros autores como Solomón²⁸, Sabin²⁵, Rotem²⁴ y Galpine⁹, trabajando en aislamiento de virus en epidemias de meningitis asépticas, reportan un predominio marcado de hembras sobre varones. Por el contrario, Karzon¹⁴ encontró resultados inversos para el ECHO 4. En nuestros casos hay un ligero predominio de hembras sobre varones en una proporción que fue constante para todos los virus estudiados.

RESUMEN

Se estudió la incidencia de los ECHOvirus 6, 7, 8, 9 y 19, en una población infantil sana, y se encontró que existen anticuerpos contra los ECHOvirus tipo 9 y 19, aún no aislados en el país. Las curvas presentadas señalan una alta endemicidad de los ECHOvirus 7 y 8 y la presencia del ECHO 6 en la zona, aunque éste no alcanza grandes proporciones.

Se demostró la existencia de dos etapas de alta incidencia viral: la primera infancia y la edad escolar. Esta última quizás beneficiada por las oportunidades de contagio que existen en esta edad. No se pudo demostrar alguna preferencia por sexo.

Este trabajo ha sido realizado en el Departamento de Estudio de la Gastroenteritis del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas. Nuestro agradecimiento al Dr. Otto Núñez Montiel, a la Sra. Juana Vitelli de Flores, Lorgia Gutiérrez, y Angela Angarita, por la colaboración brindada para su elaboración.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. — Anuario de epidemiología y estadística vital del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Venezuela 1956-60.
2. — BRICEÑO IRAGORRY, L. "Contribución al estudio de la naturaleza infecciosa del síndrome diarrea y enteritis infantil". Rev. S.A.S. 7: 363. 1942.

3. — BRICEÑO IRAGORRY, L.; FOSSAERT, C. H. "Estudio bacteriológico de las diarreas y enteritis infantiles en Venezuela". Primer Congreso Venezolano de Salud Pública y Tercera Conferencia de Unidades Sanitarias. 125. 1956.
4. — COMMITTEE ON THE ENTEROVIRUSES. "The enteroviruses". Am. J. Publ. Hlth. 47: 1556. 1957.
5. — CORRIELL, L. L.; SCHAFFER, K.; FELTON, H. M.; FERNANDEZ MORAN, H.; BIERLY, M. Z. "A serological and clinical survey of poliomyelitis in Caracas, Venezuela and Galveston, Texas, and response to Salk vaccine". Am. J. Publ. Hlth. 46: 1431. 1956.
6. — D'ALESSANDRO, G.; DARDANONI, L. "Bacterial and viral etiology of diarrheal disease in infancy". Rev. Ist. Sierot. Ital. 36: 129. 1961.
7. — Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases. Second edition. American Public Health Association. New York. 1956.
8. — EICHENWALD, H. F.; ABABIO, A.; ARKY, A.M.; HARTMAN, A.P. "Epidemic diarrhea in premature and older infants caused by ECHOvirus type 18". J. A. M. A. 166: 1563. 1958.
9. — GALPINE, J. G.; CLAYTON, T. M.; ARDLEY, J.; BASTER, N. "Outbreak of aseptic meningitis with exanthem". Brit. Med. J. 1: 319. 1958.
10. — GORDON, I.; INGRAHAM, H. S.; KORN, S. R. F. "Transmission of epidemic gastroenteritis to human volunteers by oral administration of fecal filtrates". J. Exptl. Med. 25: 105. 1944.
11. — HIATT, C. W. "Certain mathematical aspects of the susceptibility of erythrocytes to lysis". Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 66: 279. 1947.
12. — HIGGINS, A. R. "The case for viral diarrheal disease". Am. J. Med. 21: 157. 1956.
13. — KABAT, E. A.; MAYER, M. "Experimental Immunochemistry". Charles C. Thomas. Springfield. 1958.
14. — KARZON, D. T.; GORDON, L. E.; BARON, A. L.; HAYNER, N. S.; WINKELSTEIN, W. "Aseptic meningitis epidemic due to ECHO 4 virus". Am. J. Dis. Child. 101: 610. 1961.
15. — KONO, R. "Poliomyelitis in Japan. Epidemiology, sero-reaction and pathology in viral disease". Annual report of the Institute for Virus Research. Kyoto University. Kyoto. 1960.
16. — LIGHT, J. A.; HODES, H. L. "Studies on epidemic diarrhea of the newborn. Isolation of a filterable agent causing diarrhea in calves". Am. J. Publ. Hlth. 33: 1415. 1943.
17. — MELNICK, J. L. "Isolation of virus and development of neutralizing and complement-fixing antibodies in poliomyelitic patients". Ann. N. Y. Acad. Sci. 61: 1005. 1955.
18. — MENDEZ, C. H.; BRICEÑO IRAGORRY, L. "Diarrea del lactante. Revisión de su etiopatogenia". Arch. Ven. Puer. Pediat. 18: 17. 1955.

19. — NUÑEZ MONTIEL, O. Comunicación personal.
 20. — OROPEZA, P.; IRAZABAL, P.; BRICEÑO IRAGORRY, L. "La mortalidad infantil en Caracas desde 1938 a 1942. Las diarreas y enteritis. Su etiología". Jornadas Venezolanas de Puericultura y Pediatría. 11: 131. 1944.
 21. — PAUL, J.; HORSTMANN, D. "A survey of poliomyelitis antibodies in French Morocco". Am. J. Trop. Hyg. 4: 512. 1955.
 22. — RAMOS ALVAREZ, M.; SABIN, A.B. "Enteropathogenic viruses and bacteria. Role in summer diarrheal diseases of infancy and early childhood". J.A.M.A. 167: 147. 1958.
 23. — REIMAN, H. A.; HODGES, J. H.; PRICE, H. A. "Epidemic diarrhea, nausea and vomiting of unknown cause". J.A.M.A. 127: 1. 1945.
 24. — ROTEM, C. E. "Meningitis of virus origin". Lancet. 1: 502. 1957.
 25. — SABIN, A.B. "Role of ECHO viruses in human diseases. Viral infection of infancy and childhood". Symposium N° 10. New York Academy of Medicine. Hoeber-Herner Book. New York. 1960.
 26. — SABIN, A. B.; RAMOS ALVAREZ, M.; ALVAREZ AMES-QUITA, J.; PELON, W.; MICHAELS, R. H.; SPIGLAND, I.; KOCH, M. A.; BARNES, J. M.; RHIM, J.S. "Live oral giving poliovirus vaccine. Effect of rapid mass immunization in population under conditions of massive enteric infection with other viruses". J.A.M.A. 173: 1521. 1960.
 27. — SCHMIDT, N. J.; DENNIS, J.; LENNETTE, E. H. "Complement fixing antibody response to ECHO virus type 12 and 19 of patients with enterovirus infection". Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 109: 364. 1962.
 28. — SOLOMON, P.; WEINSTEIN, L.; TE-WEN, CH.; ARTENSTEIN, M. S.; AMBROSE, C.T. "Epidemic, clinical and laboratory features of an epidemic of type 9 ECHOvirus meningitis". J. Pediat. 55: 609. 1959.
 29. — THOMPSON, W.R.; MALTANER, F. "On the construction of graph and tables for evaluation of the quantitative complement fixation reaction and reaction ratios". J. Immunol. 38: 147. 1940.
 30. — VITELLI FLORES, J.; NUÑEZ MONTIEL, O. "Técnicas para la preparación de cultivos celulares". Pediatría (Chile). 7: 58. 1964.
 31. — VON KROGH, M. "Colloidal chemistry and immunology". J. Infec. Dis. 19: 452. 1916.
 32. — YOUNG, B. M.; LINDBERG, R. B.; JAHIEL, B. B.; SO-CHARD, M. R.; HEMPHILL, J.J.; NAIMARK, N. H. "Studies of infectious agents in infant diarrhea; virologic, bacteriologic and parasitologic flora of a group of fecal samples collected from puerto rican children". Bact. Proc. 1958.
-