

# VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE LA INFLUENZA

Como complemento del trabajo precedente, se consideró de interés estudiar en el país la actividad del virus que en los últimos dos años ha hecho su aparición en diferentes regiones del Continente americano.

Han sido analizados los aislamientos virales, su caracterización antigénica y las muestras de sueros pareados procedentes de diversos lugares del país, confirmandose que los brotes epidémicos estudiados fueron producidos por cepas de Influenza estrechamente relacionadas a la cepa A/Victoria/75 (H3N2).

*Según se anunció, este relato junto con el precedente obtuvieron Mención Honrosa en el Concurso del Colegio Médico de Chile para premiar el mejor trabajo sobre un tema de Salud Pública con ocasión del DIA DEL MEDICO, el 3 de diciembre de 1976.*

## Influenza A/Victoria/3/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) en Chile

### ESTUDIO VIROLOGICO

*Dra. MANUELA VICENTE S. \**

*Dra. EDITH AGUILERA V. \*\**

#### INTRODUCCION

El virus de Influenza A/Victoria/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) ha estado circulando en los dos últimos años en diferentes países del Hemisferio Norte y Sur.

Las epidemias producidas por dicha cepa han sido de distinta intensidad y gravedad en las regiones afectadas. Por este hecho se ha considerado de interés estudiar su actividad en Chile.

En este trabajo, que complementa el estudio epidemiológico, se describirán los dos brotes epidémicos registrados hasta la fecha, en los años 1975 y 1976. Se analizarán los aislamientos virales, su caracterización antigénica y las muestras de sueros pareados procedentes de distintas regiones del país.

#### MATERIAL Y METODOS

##### MUESTRAS PARA AISLAMIENTO

Se recibieron 510 muestras para aislamiento viral de enfermos con diagnóstico clínico de Influenza, o complicaciones posteriores, de los brotes epidémicos detectados en Chile en 1975 y 1976. La procedencia y tipo de muestras recibidas se detalla en la Tabla N° 1.

Del total de muestras recibidas, en 45 (9%) no pudo realizarse el examen por no cumplir los requisitos necesarios en cuanto a calidad, contaminación bacteriana persistente o muestra insuficiente.

\* Químico Farmacéutico, Virología, Instituto Bacteriológico de Chile.

\*\* Médico Veterinario, Depto. Virología Instituto Bacteriológico de Chile.

T A B L A N ° 1

MUESTRAS PARA AISLAMIENTO DE VIRUS INFLUENZA  
Brotes Epidémicos, Chile, 1975 y 1976

Procedencia	Lavados Faringeos	Pulmón y Bazo	Varios	TOTALES
Hospitales	294	53	9	356 (70%)
Consultorios	105	—	—	105 (21%)
Particulares	49	—	—	49 (9%)
<b>TOTALES</b>	<b>448 (88%)</b>	<b>53 (10%)</b>	<b>9 (2%)</b>	<b>510 (100%)</b>

## SUEROS

Se analizaron sueros pareados en 117 casos.

## ANTIGENOS

Se utilizaron las siguientes cepas de virus Influenza:

A-Chile-74 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>), (A-Ch-74; A-Chile-75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>), A-Ch-75; A-Ch-76 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>), (A-Ch-76; A-Swine-Wisconsin-67 (HswiN1) (-sw-Ws-67; A-Victoria-75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) (A-Vict-75) y B-Hong Kong-72 (B-hk-72). El Antígeno hemaglutinante A-Vict-75 provenía del Centro de Enfermedades Infecciosas de Atlanta, USA. Los demás antígenos hemaglutinantes se usaron en forma de líquidos alantoídeos infectados: diluidos al 50% en glicerina estéril (1), conservados por adición de Merthiolate o Azida de sodio; o purificados por adsorción con eritrocitos de gallina (2), y fueron preparados en nuestro laboratorio, así como los antígenos de Influenza tipos A y B usados en la prueba de Fijación de Complemento.

## ANTISUEROS

En la reacción de Inhibición de la Hemaglutinación se utilizaron sueros standard preparados en gallos inoculados con las cepas mencionadas (2).

Como controles de la reacción de Fijación de Complementos se emplearon sueros humanos positivos para Influenza A ó B.

## INHIBICION DE LA HEMAGLUTINACION

(IHA) Se utilizó la microtécnica ya descrita (3).

## FIJACION DE COMPLEMENTO

(FC). Se utilizó el micrométodo mencionado para la reacción de IHA, con salina Köhler como diluyente y 2 UH 100 de Complemento.

## METODO DE AISLAMIENTO

Las muestras se inocularon en huevos embrionados de gallina de 10 - 11 días de incubación, por vía alantoídea y amniótica simultáneamente. Fueron incubados durante 48-72 horas y se cosecharon los líquidos amnióticos y alantoídeos por separado.

## RESULTADOS

### BROTE EPIDEMICO DE INFLUENZA, SANTIAGO, 1975

Durante los meses de noviembre a diciembre de 1975 el laboratorio detectó algunos casos de Influenza en Santiago. Las muestras recibidas para aislamiento viral o serología fueron escasas y se aislaron solamente tres cepas de Virus Influenza A. La primera provenía de un caso infantil de síndrome de Reye, post-influenza, cuya etiología fue también confirmada por el estudio serológico. Las otras cepas se obtuvieron de muestras de dos casos clínicos de Influenza en adultos. (4).

T A B L A N . 2

REACCIONES CRUZADAS ENTRE CEPAS DE VIRUS INFLUENZA  
Cepas A/Chile/74 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) y A/Chile/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>)  
Inhibición de la Hemaglutinación

Antígenos:	Antisueros de gallo	
	A/Ch/74	A/Ch/75
A/Chile/74 (H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> )	80 *	80
A/Chile/75 (H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> )	40	320

\* Los números representan el valor recíproco de la dilución de suero que causa inhibición total frente a 4 IHA de Antígeno

Las reacciones cruzadas en IHA (Tabla N° 2) entre la primera cepa aislada en 1975 y la cepa chilena prototipo del año anterior, A/Ch/74, que es antigénicamente semejante a las cepas de Influenza A/Port Chalmers/73 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>), permiten concluir que existe variación antigénica parcial en el antígeno hemaglutinante de las dos cepas, aunque ambas siguen perteneciendo al subtipo H<sub>3</sub>.

## EPIDEMIA DE INFLUENZA, CHILE, 1976

En primer término se presentan los resultados que corresponden al estudio del brote epidémico de Santiago.

Los aislamientos virales de las muestras procesadas procedentes del Area Metropolitana de la ciudad de Santiago se exponen en la Tabla N.º 3.

**T A B L A N.º 3**

**EPIDEMIA DE INFLUENZA A/Santiago, 1976**  
Muestras procesadas para aislamiento viral

Fecha	Nº de Muestras	Aislamientos	
		Positivos	Negativos
5-11 de Abril	11	2 (18%)	9 (82%)
12-18 " "	46	5 (11%)	41 (89%)
19-25 " "	33	13 (39%)	20 (61%)
26 Abril al 2 Mayo	74	32 (43%)	42 (57%)
3-9 de Mayo	63	21 (33%)	42 (67%)
10-16 " "	81	23 (27%)	58 (73%)
17-23 " "	42	8 (19%)	34 (81%)
24-30 " "	32	6 (19%)	26 (81%)
31 Mayo al 6 Junio	29	2 (7%)	27 (93%)
7-13 de Junio	12	—	12 (100%)
14-20 " "	5	—	5 (100%)
21-27 " "	6	—	6 (100%)
<b>TOTAL</b>	<b>434</b>	<b>112 (26%)</b>	<b>322 (100%)</b>

El período estudiado corresponde desde el 5 de abril al 27 de junio, duración del brote de Influenza. Se observa un aumento gradual en el número de muestras recibidas por semanas, con valores máximos desde el 26 de Abril al 16 de Mayo.

La cifra total de muestras procesadas fue 434, de las que se aislaron 112 cepas de Influenza A; trece de ellas pertenecían a 39 casos fatales de Influenza. Todos los virus aislados fueron tipificados como Influenza tipo A, en reacciones de IHA y FC.

**T A B L A N.º 4**

**REACCIONES CRUZADAS ENTRE CEPAS DE VIRUS DE INFLUENZA**  
A/Victoria/75 (H3N2), A/Chile/75 (H3N2) y A/Chile/76 (H3N2).

Antígenos:	Inhibición de la hemaglutinación		
	Antisueros de gallo:		
	A/Vict/75	A/Ch/75	A/Ch/76
A/Vict/75 (H3N2)	320 *	160	160
A/Chile/75 (H3N2)	320	320	320
A/Chile/76 (H3N2)	240	240	320

\* Los números representan el valor recíproco de la dilución de suero que causa inhibición total frente a 4 IHA de antígeno. Los títulos anotados son los valores medios de dos determinaciones.

En la Tabla N.º 4 se comparan las reacciones cruzadas en IHA entre las cepas de virus Influenza A aisladas en 1975 y 1976 en Santiago, y la cepa prototipo A/Vict/75. Los títulos de las cepas estudiadas frente a los antisueros homólogos y heterólogos presentan una diferencia máxima de una dilución.

El análisis antigénico, en reacciones de IHA, de todas las cepas obtenidas en Santiago, comprobó resultados semejantes a la cepa del año

1976 descrita en la Tabla N.º 4. Los valores determinados frente al antisuero standard preparado con la cepa A/Ch/75 fueron iguales al título de la cepa prototipo elegida en 91 casos (82%) y en 21 casos (18%) presentaron variaciones de una dilución, ya sea superior o inferior.

En 72 casos se estudiaron sueros pareados (agudo y convalescente) cuyos resultados se analizan en la Tabla N.º 5. De ellos, solamente

en 51 se recibieron también muestras para aislamiento detectándose seroconversión para Influenza A en 41 (80%), con aislamientos positivos en 14. En los 21 casos sin muestras para

lelas para aislamiento, se demostró seroconversión en 9. Serológicamente se confirmaron 50 (69%) casos positivos para Influenza A/Vict/75 (A/Ch/76).

T A B L A N.º 5

EPIDEMIA DE INFLUENZA A. SANTIAGO, 1976. SUEROS PAREADOS

Nº de casos	Positivos			Totales	
	Fij.C.	IHA	Fij.C.+IHA	Posit.	Negat.
Con Aislamiento 51 ( 70%)	6	9	26	41 (80%)	10 (20%)
Sin Aislamiento 21 ( 30%)	2	3	4	9 (42%)	12 (58%)
<b>TOTALES 72 (100%)</b>	<b>8 (11%)</b>	<b>12 (17%)</b>	<b>30 (41%)</b>	<b>50 (69%)</b>	<b>22 (31%)</b>

En la Figura N.º 1 se observa la distribución de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación en 50 sueros pareados seleccionados en Santiago. Frente al antígeno de Influenza A/Ch/75, semejante a la cepa causante del brote de 1976, los títulos obtenidos aumentaron en forma significativa en las muestras agudas y convalescientes frente a los antígenos de Influenza A/sw/Ws/67 y B/HK/72.

El total de casos confirmados en Santiago, sumando los detectados por aislamiento viral y por seroconversión ascendió a 144.

Los resultados del resto del país son los siguientes:

**Rancagua.** (Zona Central). Se procesaron 14 muestras para aislamiento viral, de las cuales 9 fueron acompañadas de sueros pareados. Se determinaron 3 casos positivos (21%), por conversión serológica en FC e IHA, frente a Influenza A/Vict/75. En uno de ellos se aisló una cepa de virus Influenza tipo A/Vict/75.

**Valparaíso.** (Zona Central). Se recibieron nueve muestras para aislamiento viral acompañadas de sueros pareados en siete casos. En todas ellas se obtuvieron resultados positivos para Influenza tipo A/Vict/75. Se aislaron 7 cepas de virus Influenza que fueron confirmados por seroconversión en 5 casos. Las dos muestras que dieron resultados negativos en aislamiento fueron también seropositivas en FC e IHA.

**Concepción.** (Zona Sur). Solamente se recibió una muestra para aislamiento viral, con resultado negativo. Se analizaron 15 casos con sueros pareados, en 10 (67%) de ellos se observó seroconversión frente a Influenza tipo A/Vict/75 en FC e IHA.

En una ocasión se detectó alza frente a Influenza B/HK/72 en IHA, y no se observó alza para Influenza Tipo A.

**Punta Arenas.** (Zona Austral). Se realizó el estudio serológico de 13 casos, detectándose retroconversión frente a Influenza A/Vict/75 en FC e IHA en 9 (69%) de ellos.

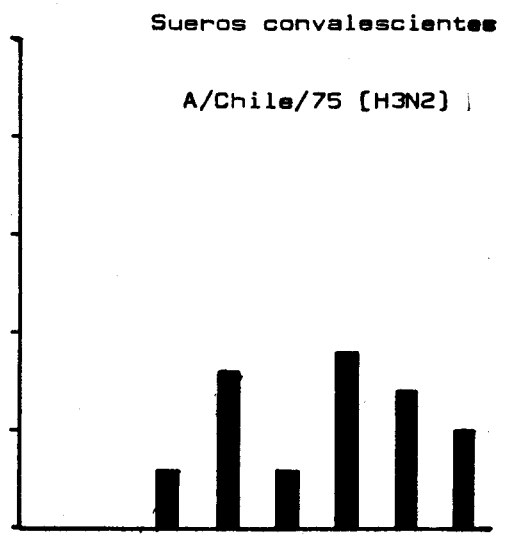
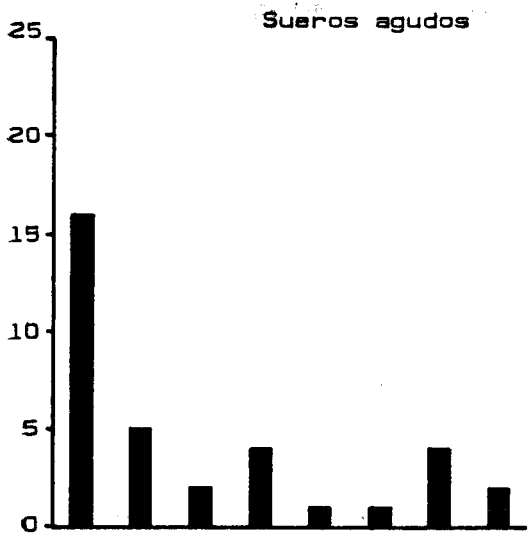
En análisis antigénico en IHA de las cepas obtenidas en el resto del país estudiado fue semejante a lo observado en la Tabla N.º 4 para las cepas de Santiago.

DISCUSION

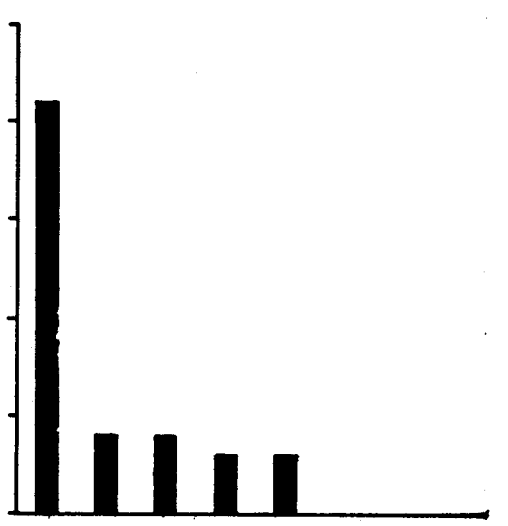
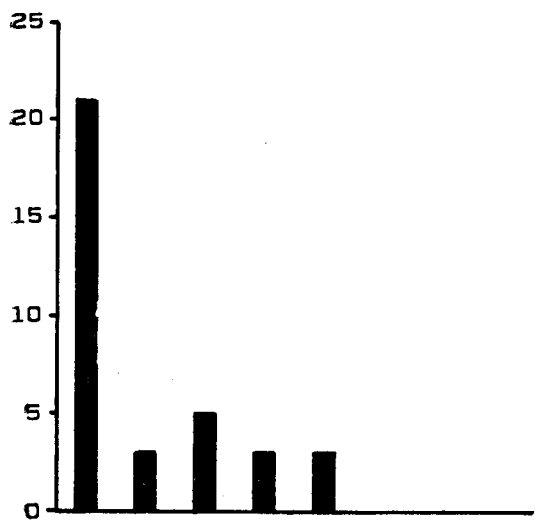
El laboratorio de virus ha trabajado en estrecha relación con los servicios epidemiológicos del país, lo que ha permitido establecer un sistema de vigilancia de Influenza (5). La intensificación de este sistema permitió el estudio de la presencia de Influenza A/Vict/75 en Chile, a que se refiere este trabajo.

Durante 1975 no se detectó la presencia de virus Influenza en la época esperada, meses de invierno. Inesperadamente en Noviembre y coincidente con una alza moderada en la morbilidad por enfermedades respiratorias (4), se aisló una cepa de Influenza A, cuyo análisis antigénico en IHA (Tabla N.º 2) demostró poseer una variación detectable, aunque no total, en su hemaglutinina con la cepa tipo de Influenza A aislada en Chile el año precedente A/Ch/74 H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>, semejante a la cepa A/Port Chalmers/73 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>). La confirmación del hallazgo de dicha variante se realizó en el Centro Colaborativo de Influenza, CDC, Atlanta, USA, y fue identificado en IHA como estrechamente relacionada con la cepa A/Victoria/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>).

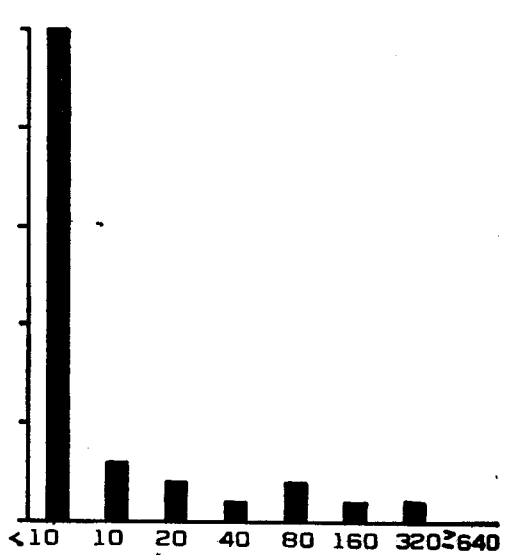
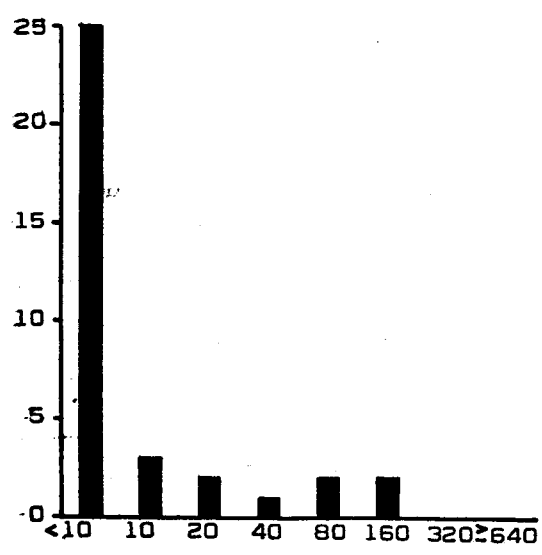
sueros pareados. Reacción de IHA.



B/Hong Kong /72



A/sw/Wisconsin/67 (Haw1N1)



Valor recíproco del título en IHA.

Esta cepa apareció en Abril de 1975, siendo prevalente desde entonces en el S. E. de Asia, Australia y algunas islas del Pacífico. (6). La primera cepa y las siguientes, aisladas en Chile en Noviembre-Diciembre de 1975, todas de características antigénicas semejantes, fueron las únicas encontradas en América del Sur en dicho año.

Desde la pandemia de 1957, en la cual la difusión de la cepa A/Japan/57 (H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) fue prácticamente simultánea en los dos hemisferios, es la primera vez que una variante de Influenza se propaga antes en Chile que en los países del Hemisferio Norte. Los primeros casos informados en el Hemisferio Norte, causados por la cepa A/Vict/75, se registraron en Enero de 1976. (7).

A fines de Marzo de 1976, se intensificó la toma de muestras de vigilancia de Influenza. Como resultado, los primeros aislamientos virales positivos se obtuvieron la semana del 5 al 11 de Abril, al mismo tiempo que comenzó el aumento en la morbilidad por enfermedades respiratorias agudas e Influenza. El volumen de muestras recibidas aumentó gradualmente con valores máximos en la primera quincena de Mayo (Tabla N.º 3), coincidiendo con la onda epidémica que afectaba a la ciudad de Santiago (4), y con el mayor número de cepas aisladas. El mayor rendimiento en aislamientos virales se encuentra en las semanas en que la epidemia alcanza su nivel más alto; esto se debe a que la mayoría de las muestras pertenecían a casos clínicos de Influenza con pocos días de evolución. Al avanzar el curso de la epidemia descendiendo el número de muestras recibidas y aumenta la negatividad, ya que porvienen, en gran proporción de enfermos hospitalizados en un período de larga evolución de la enfermedad.

Debido al bajo número de casos fatales estudiados y a que, en su mayoría, la presencia de agentes infecciosos bacterianos dificultó el aislamiento viral, no pudo concluirse con certeza el porcentaje en que el virus Influenza fue una causal directa del deceso.

El análisis antigénico en IHA de las cepas de 1975 y 1976 (Tabla N.º 4), permite concluir que todas ellas están estrechamente relacionadas en su antígeno hemaglutinante. Esta relación es tal que las cepas chilenas han sido denominadas como Influenza tipo A/Victoria/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>). El estudio del resto de las cepas aisladas en Santiago, verificado frente al antisuero standard preparado con la cepa A/Ch/75,

determinó tal uniformidad entre ellas que han sido igualmente agrupadas como tipo A/Vict/75.

Los resultados de aislamiento viral fueron confirmados por los estudios serológicos de las muestras, aguda y convalescente, en solamente 51 casos (12%). La ausencia de sueros pareados en el resto impidió el estudio completo en aquellos con aislamiento positivo y, en los que el aislamiento fue negativo, no permitió la detección de posibles seroconversiones.

En las reacciones de IHA se utilizaron los antígenos de Influenza: A/Ch/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>); B/HK/72 y A/sw/Ws/67 (H<sub>5</sub>W<sub>1</sub>N<sub>1</sub>), este último para descartar la posibilidad de infecciones por virus Influenza tipo porcino. Todas las seroconversiones de Santiago se debieron exclusivamente a las cepas tipo A/Vict/75 (Figura 1).

De los resultados serológicos obtenidos podría deducirse que de las dos microtécnicas utilizadas es ligeramente más sensible la de IHA que la de FC.

Los virus aislados de Rancagua y Valparaíso poseían características antigénicas semejantes, en IHA, a las de Santiago.

Las muestras recibidas de Valparaíso procedían del personal de la Armada Nacional, entre el que se inició el brote que posteriormente se generalizó a la población civil de dicha Región. El óptimo rendimiento obtenido, 100% de positividad, se debió a la excelente toma de muestras de serología y a que todas las muestras para aislamiento fueron lavados faríngeos en las primeras 48 horas de evolución.

Por la distancia geográfica, que impidió el análisis de muestras para aislamiento, solamente se estudiaron sueros pareados de las zonas del Sur del país, Concepción y Punta Arenas. Se detectó, en Concepción un caso único con aiza de dos diluciones frente a Influenza B/HK/72, en IHA, con aumento de una dilución en FC. El resto de las seroconversiones se debieron a Influenza tipo A/Vict/75, en FC e IHA. El resultado obtenido confirma que el agente etiológico mayoritario de la epidemia fue el virus Influenza tipo A/Vict/75, en forma semejante a lo observado en la zona Central.

Aunque el análisis realizado de este trabajo permitió aislar las cepas de Influenza, estudiar sus características antigénicas y la magnitud relativa de los brotes epidémicos, sería de importancia mantener una vigilancia constante de

toma de muestras en los períodos inter-epidémicos.

Todos los problemas que existen para el envío de muestras para aislamiento, desde el resto del país al laboratorio de Santiago, sería necesario aumentar el estudio de sueros pareados, que permitirían una ampliación del diagnóstico a las zonas más alejadas.

## RESUMEN

El virus de Influenza A/Victoria/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) fue aislado por primera vez en Chile y en América del Sur en Noviembre de 1975, a partir de un caso de síndrome de Reye post-influenza. En dicha fecha dio origen a un brote epidémico de baja intensidad.

Posteriormente se detectó nuevamente desde Abril hasta Junio de 1976. Se identificaron

120 cepas en la Zona Central del país, las que fueron estudiadas en reacciones cruzadas en Inhibición de la Hemaglutinación con antisueños tipo, y clasificadas como antigénicamente semejantes a las aisladas en 1975, y a la cepa A/Victoria/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>).

Los análisis realizados en sueros pareados de 72 enfermos con diagnóstico de Influenza corroboraron los resultados de los aislamientos, confirmando que los brotes epidémicos estudiados fueron producidos por cepas de Influenza estrechamente relacionadas a la cepa A/Victoria/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>).

El total de casos confirmados por aislamiento viral o serología fue de 175 en todo el país.

Del presente trabajo se concluye la necesidad de continuar y estrechar aún más las relaciones existentes entre los servicios de epidemiología y el laboratorio.

## BIBLIOGRAFIA

1. AVENDAÑO, O. Técnicas de Rutina del Depto. de Virus, Instituto Bacteriológico de Chile.
2. BUCCA, M. y cols. Procedural Manual for Production of Viral And Rickettsial Reagents. NC-DC. Atlanta, Ga. 1968.
3. VICENTE, M. y cols. Antibodies against human types A and B Influenza viruses in the sera of animals in Spain. Bull. Wld. Hlth. Org. 48: 378, 1973.
4. FALAHA, F. Influenza A/Victoria/75 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) en Chile. Estudio Epidemiológico. En prensa.
5. VICENTE, M. y col. Vigilancia serológica de Influenza A y B en el Area Poniente de Santiago (1972-74). Rev. Méd. Chile. 102: 847, 1974.
6. MORBIDITY AND MORTALITY. 24: Nº 43, 372, 1975.
7. MORBIDITY AND MORTALITY. 25: Nº 5, 39, 1976.

---

## AGRADECIMIENTOS

*Agradecemos la colaboración prestada por el Dr. Germán Neumann y las Srtas. Ana Cárcamo y Alda Cabeza con su ayuda técnica.*