

ESTUDIO SOBRE INCIDENCIA DE ANTICUERPOS A VIRUS DE INFLUENZA TIPO "A", ENTRE UN GRUPO DE ESTUDIANTES DE MEDICINA

por MARGARET I. SELLERS *

Laboratorio de Virus
Facultad de Medicina

Desde que no existían datos de laboratorio que indicaran si en el Perú se había presentado la Influenza "asiática" que recientemente azotara al mundo, se decidió probar un reducido número de sueros para examinar su sero-inmunidad a dicho virus. La enfermedad había sido diagnosticada clínicamente en Lima y en otras partes del Perú pero no se tenía confirmación de laboratorio. Al mismo tiempo se incluyó en el "survey" dos diferentes cepas de tipo A del virus de Influenza, los prototipos PR8 y FM1. Los datos de laboratorio referentes a la incidencia de aquellas cepas eran igualmente inexistentes.

Material y Métodos,

Se estudió la sero-inmunidad por la técnica de inhibición de la hemaglutinación, empleando métodos standard (1). Los prototipos de virus de influenza se obtuvieron de la División de Virología del Departamento de Enfermedades Infecciosas de la Escuela de Medicina de la Universidad de California, Los Angeles, California. Los virus PR8 y FM1 eran cepas standard de laboratorio que habían sido mantenidos en estado de congelación y que ocasionalmente habían sido pasados

(*) Comisionado de Fulbright en Enfermedades a Virus. Profesor Asistente del Dpto. de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Medicina, Universidad de California, Los Angeles, California.

a través de huevos embrionados. La cepa de virus asiático era el Jap/305/57, que fue originalmente aislado por Myer, et al. (2) y que también había sido mantenida en estado de congelación y llevado a través de un número mínimo de pasajes de huevo.

Los antígenos de la cepa de virus arriba mencionados fueron preparados en huevos de gallina, embrionados. Embriones de 10 días de edad fueron inoculados por vía de la cavidad corio-alantoidea con 0.2 cc de diluciones de virus al 10—3 y 10—4 e incubados a 35°C por 48 horas. Los huevos fueron sacados del incubador y trasiluminados y sólo fueron utilizados los embriones vivos para el antígeno viral, para lo que se les almacenó en la refrigeradora durante la noche. El líquido corio-alantoideo fue examinado por el método del "spot plate" (3) para investigar la actividad viral. Los líquidos que mostraban contener virus de una cepa determinada fueron recogidos con una jeringa de 20 cc y una aguja de calibre 18 a 1 y 1/2 pulgada, y juntados posteriormente. Estos líquidos infectados se titularon para conocer su actividad viral en diluciones dobles de suero salino fisiológico; y para hacer las diluciones se usaron tubos de prueba serológicos, de tamaño standard. A un volumen final de 0.5 cc de cada dilución de virus, se agregaba 0.5 cc de una suspensión al 1% de hematíes humanos tipo "O" lavados. Se agitaba vigorosamente los tubos y se les dejaba en reposo a temperatura de la habitación generalmente por 90 minutos. Los tubos que mostraban hemaglutinación completa fueron considerados como de contener una unidad de virus o sea el punto máximo de la actividad del virus.

Los sueros fueron colectados por veno-punctura a estudiantes de Medicina de primer y segundo año, escogiéndose a individuos que no hubieran estado nunca fuera del país; el 95% de ellos eran de Lima y alrededores y el 5% restantes de otras áreas urbanas. Después de coagulada la sangre, se extraía el suero con una pipeta Pasteur y se centrifugaba para liberarlo de los hematíes remanentes. Se inactivaba entonces el suero en un baño de agua a 56°C por 30 minutos y se almacenaba en una congeladora hasta usarla. Antes de ser utilizado, el suero era descongelado y tratado con periodato por una noche, a fin de liberarse de los inhibidores de las hemaglutininas no específicos que podían estar presentes en un suero normal (4). Se practicaron diluciones seriadas al doble en suero fisiológico, y cada tubo serológico contenía 0.25 cc. de suero diluido. Una cantidad standard de virus de cuatro unidades contenidas en un volumen total de 0.25 cc de suero salino fisiológico se añadió a cada tubo. Las mezclas virus-sueros se de-

jaron reposar a temperatura de habitación por 30 minutos, después de lo cual se añadió 0.5 cc de una suspensión de hematíes tipo "O" al 1%, y los tubos se agitaron vigorosamente. Se dejaron reposar los tubos a temperatura del cuarto hasta que los hematíes sedimentaron por completo. El título del suero equivale a la dilución máxima en que evita la hemaglutinación.

Resultados experimentales.

Los resultados tal como está anotado en la Tabla I muestran que, el tipo A con las cepas PR8 y FM1 han sido altamente prevalentes en el Perú. La seroinmunidad contra cada una de dichas cepas fue demostrada en el 93% de los individuos examinados. El promedio de la Influenza asiática fue el 31%; siendo de interés el anotar que dicho porcentaje corresponde casi exactamente a la cifra informada para este virus en la reciente epidemia mundial (5).

TABLA I

Sero inmunidad a virus A de influenza en 100 estudiantes de Medicina del primer y segundo año, de la Facultad de Medicina de Lima.

Cepa de virus	Anticuerpos presentes	Título de anticuerpos		
		Bajo	Alto	Medio
	%			
PR8	93	10	640	160
FM1	93	20	640	320
Jap/305/57	31	10	80	20

Los niveles del anticuerpo, tomados como las recíprocas de las diluciones del suero que prevenían hemaglutinación, mostraron un especto amplio. Los títulos individuales varían de 10 a 640 en el caso de PR8 y FM1, y de 10 a 80 en el caso de la cepa asiática del virus. Aunque diversos factores influyen sobre la respuesta individual a un antígeno, el número de veces que un individuo ha entrado en contacto con un antígeno dado, se traduce en el nivel de sus títulos de anticuerpos. Por lo tanto, el espectro de títulos anotados en la Tabla I su-

giere que este grupo de estudiantes han tenido múltiples experiencias con los antígenos PR8 y FM1, y probablemente un sólo contacto con el antígeno Jap/305/57. Dichos títulos son comparables a aquellos encontrados entre grupos en Norte América (6), incluso grupos de estudiantes de Medicina (7).

TABLA II

Sero inmunidad a virus A de influenza en 100 estudiantes de Medicina del primer y segundo año, de la Facultad de Medicina de Lima.

Datos de anticuerpos combinados	
Anticuerpos a 3 cepas de virus.	30
Anticuerpos a 2 cepas de virus.	60
Anticuerpos a 1 cepa de virus.	7
Ausencia de anticuerpos a las cepas de virus.	3

En la Tabla II los datos han sido anotados con respecto al número de diferentes antígenos que han estado en contacto con cada individuo, sobre esta base, sólo 3 estudiantes de un grupo de 100 estaban libres de anticuerpos a todas las cepas de influenza de tipo A que se emplearon. Por otra parte, 30 estudiantes tenían anticuerpos presentes contra 3 cepas de virus. El mayor porcentaje, 60 estudiantes, poseían anticuerpos contra dos cepas mientras que 7 individuos tenían anticuerpos contra una sola cepa.

Discusión.

Los estudios modernos de influenza dependen de la información obtenida del laboratorio. Las impresiones clínicas pueden sugerir influenza, pero hasta que el aislamiento de virus se haya demostrado, o se compruebe una experiencia antigénica, no puede hacerse una diagnós-

tico definitivo desde que diversos agentes son capaces de producir un síndrome similar a la influenza (8).

La experiencia antigénica investigada en este estudio ha mostrado claramente que la influenza A, ha sido prevalente en el Perú. Es de interés el hallazgo de evidencias definitivas de que la influenza asiática también alcanzó al Perú. Desde que las muestras de suero fueron tomadas de individuos que viven en áreas urbanas, ellas no indican cuál fué la incidencia entre la población de la Sierra y Selva si es que la influenza alcanzó dichas zonas. Igualmente debe remarcar-se que estas investigaciones incluyeron únicamente cepas de tipo A de influenza; no se estudió la incidencia de la influenza tipo B. Desde que el número de los especímenes de suero examinado fue relativamente bajo, los resultados no pueden interpretarse como representando la verdadera incidencia de los virus Tipo A entre la población. Los datos se muestran, sin embargo, que las tres cepas de virus de influenza han sido prevalentes en el área.

Sumario.

Tres cepas de virus A de influenza han mostrado haber sido prevalente en áreas urbanas del Perú. La experiencia antigénica, mostrada por las pruebas de inhibición de la hemaglutinación con los virus PR8 y Jap/305/57 se demostraron entre 100 estudiantes de Medicina del primer y segundo año. La sero-inmunidad al PR8 y FM1 fue encontrado en el 93% de los individuos examinados; la sero-inmunidad a las cepas asiáticas de virus fue demostrada en 31 sujetos. La incidencia de dichas infecciones, tal como han sido indicadas por la sero-inmunidad, es similar a la encontrada entre grupos similares en Norte América.

Summary.

Three strains of Type A, influenza virus have been prevalent in urban areas of Perú. Antigenic experience, as shown by hemagglutination inhibition test with the PR8, FM1, an Asian Jap/305/57 virus strains was demonstrated among 100 first and second year medical students. Sero-inmunity to PR8 and FM1 viruses was found among 93 per cen of the individuals tested; sero-inmunity to the Asian strain of virus was demonstrated among 31 subjects. The incidence of these infections as indicated by the sero-inmunity produced, si similar to that found among similar groups in North America.

NOTA:— Queremos expresar nuestro agradecimiento a los Drs. Villavicencio y Zapata por haber hecho posible la obtención de las muestras de sangre que fueron examinadas.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—SMADEL, J. E.: Serologic reactions in viral and rickettsial infections. Chapter 3 in **Viral and Rickettsial Infections of Man**, Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1952, pp. 72-96.
- 2.—MEYER, H. M., Jr., HILLEMANN, M. R., MIESSE, M. L., CRAWFORD, I. P., and BANKHEAD, A. S.: New antigenic variant in Far East influenza epidemic, 1957. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 95:609-616 (1957).
- 3.—SALK, J. E.: A plastic plate for use in tests involving virus hemagglutination and other similar reactions. *Science*, 108:749. (1948).
- 4.—JENSEN, K. E., and HOGAN, R. B.: Laboratory Diagnosis of Asian influenza, *Public Health Reports*, 73:140-144. (1958).
- 5.—DAVENPORT, F. M.: Role of the Commission in Influenza. *Studies of epidemiology and prevention. Public Health reports*, 73:133-139 (1958).
- 6.—DEVENPORT, F. M., and HENNESY, A. V.: A serological recapitulation of past experiences with influenza A. *J. Exper. Med.*, 104:85-97. (1956).
- 7.—RASMUSSEN, A. F., and SELLERS, M. L.: Unpublished Data.
- 8.—DINGLE, J. H., and FELLER, A. E.: Noninfluenza viral infections of the respiratory tract. *New England J. Med.*, 254:465-471. (1956).