

# RECUPERACION DE VIRUS DE POLIOMIELITIS DE UNA EPIDEMIA EN IQUITOS Y DE CASOS EN EL HOSPITAL DEL NIÑO DE LIMA

MARGRET I. SELLERS\*

Laboratorio de Virus  
Facultad de Medicina

Los libros describen la poliomielitis en los países tropicales como una enfermedad vista primariamente en niños por debajo de los cinco años de edad. No existe incidencia por temporadas como ocurre en los climas templados. La enfermedad es endémica aunque en ocasiones ocurren brotes epidémicos. Las causas exactas que precipitan estos brotes, son materia de especulaciones. Probablemente un factor recientemente recordado por Sabin (1), es la introducción de una cepa altamente virulenta de virus en la población. Probablemente este factor es parcialmente responsable de poliomielitis paráliticas como las que se ven en los niños del Hospital del Niño. Además se han obtenido otras evidencias en este estudio que sugieren que una sola epidemia puede ser causada por más de un tipo de virus y parece razonable proponer que contaminaciones repentinas del servicio de agua con heces puede causar un brote de poliomielitis en el cual los tres tipos de virus están diseminados.

## MATERIAL Y METODOS

Entre julio y setiembre apareció una epidemia de poliomielitis en Iquitos en la que hubo 47 casos paráliticos con tres muertes. Más

---

\* Comisionado de Fulbright en Enfermedades a virus, y profesora Asistente Visitante; del Departamento de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Medicina, Universidad de California, Los Angeles.

del 90 por ciento de los casos fue en niños de menos de cinco años de edad (2). Se obtuvieron siete muestras de niños con parálisis, así como de siete contactos que no mostraron signos de enfermedad. También fué colectada el agua de las áreas en las que apareció la enfermedad. El Dr. Jorge Atkins gentilmente obtuvo las muestras y el Dr. Fred Vintinner se encargó del traslado de las mismas a Lima.

También se examinaron diez muestras de casos de poliomiелitis con parálisis, de pacientes del Hospital del Niño de Lima durante el mes de noviembre de este año (1958). Esas muestras fueron obtenidas por gentileza del Dr. Guillermo Filomeno.

El aislamiento viral se hizo con métodos standarizados en tejido de cultivo (3).

Se preparó una emulsión de heces al diez por ciento (por volumen) en solución salina balanceada de Hank (BSS) : se puso 10cc. de solución en un tubo de prueba (con tapa de rosca) de 20cc. y el nivel líquido fue marcado con lápiz de cera. Se extrajo un centímetro y se agregó heces hasta que el volumen del material en el tubo alcanzaba la marca de 10cc. Las heces fueron agregadas con una varilla de madera por pequeñas porciones y frotadas contra la pared del tubo exactamente por encima de la solución de BSS, hasta emulsificarlas. Se agregó penicilina y estreptomycin a una concentración de 1,000 unidades y 1,000 gammas respectivamente, por cc., las tapas fueron ajustadas y los tubos agitados unos minutos. Las suspensiones fecales fueron centrifugadas por veinte minutos a 2,000 rpm. El sobrenadante se extrajo (6cc. aproximadamente) y se transfirió a otro tubo estéril, con tapa de rosca. El material fue nuevamente centrifugado a 2,500rpm., en una centrífuga refrigerada (10°C). Los tubos fueron muy cuidadosamente extraídos de la centrífuga y se tomó aproximadamente 2cc. de cada sobrenadante y se puso en tubos estériles con tapa de rosca. Las preparaciones fueron guardadas en el congelador hasta ser usada. El tratamiento con antibióticos, centrifugación por una hora a 2,500 rpm., así como la congelación ayudaron a eliminar las bacterias presentes en las muestras que de no ser así hubieran contaminado los tejidos de cultivo en los que se intentó el aislamiento viral.

Las células empleadas en este estudio fueron las FL, obtenidas originalmente del Laboratorio del Dr. Stanley de la Universidad de California en Berkeley (4). En este estudio, de las series de células humanas a nuestro alcance, las FL mostraron ser las más útiles, de resultados más reproductibles y definidos. Se emplearon 4 tubos de tejido de

cultivo para cada muestra de materia fecal. Después de que las células crecían en los tubos, el medio de mantenimiento, que contenía suero humano, fue extraído y reemplazado por medio de mantenimiento con suero de caballo. Los tubos fueron nuevamente guardados en el incubador por una hora, tiempo después del cual, el medio fue nuevamente descartado y reemplazado y eliminado nuevamente. Esto fue hecho con el objeto de lavar las células del suero humano que podría contener anticuerpos contra los poliovirus. Finalmente se agregó 0.9cc. de medio de mantenimiento conteniendo suero de caballo. Las muestras de heces fueron removidas del congelador, derretidas y se agregó 0.1cc. de cada espécimen a cada uno de los 4 tubos. Después de incubarlos durante tres horas, el medio conteniendo la muestra de heces fue extraído y reemplazado con medio de mantenimiento fresco. Estos procedimientos se emplearon para eliminar los efectos tóxicos inespecíficos que pueden ser producidos por las muestras fecales. Algunas veces las muestras pueden ser tan tóxicas que matan las células del cultivo si son dejadas en contacto con ellas durante tres horas, de modo que con materiales como estos debe reemplazarse el medio después de sólo una hora o diluir el efecto tóxico, diluyendo a su vez a la muestra 1:2 a 1:10. Reduciendo el tiempo en que se deja en absorción de tres a una hora y diluyendo la solución de virus que puede estar presente en el espécimen, se puede reducir las posibilidades de recuperación viral. Pero como el grado de absorción del poliovirus es probablemente muy rápido, es suficiente un período de una hora para que se desarrolle la absorción. Los tubos fueron incubados en gradillas adecuadas a 37°C. y examinados diariamente para observar los cambios citopatogénicos que indican la proliferación viral. Como algunas veces hubo dificultades en distinguir entre cambios tóxicos inespecíficos y células con cambios citopatogénicos causados por el crecimiento del virus, fue necesario pasar el "virus" recientemente aislado a un nuevo cultivo de células. Si el efecto notado en el aislamiento primario es causado por actividad de un virus, entonces el efecto citopatogénico es fácilmente identificado en el pasaje secundario, al que no es posible pasar el efecto tóxico inespecífico.

Una vez que la actividad viral fué observada, se procedió a las pruebas de neutralización por sueros específicos en todos los tubos previamente mezclados en un "pool", del que se obtuvo una dilución de 1/20 en BSS. Se mezcló 0.1 cc. de cada uno de los tres tipos de antisuero de poliomielitis en tubos de prueba de tipo serológico con tapa

de goma. Se les dejó 30 minutos a temperatura ambiente. Las mezclas de antisuero con virus fueron agregadas a nuevos tubos de tejido de cultivo, a razón de 2 tubos por cada tipo de combinación. Se emplearon también controles apropiados de 0.1 cc. de solución de virus (solamente). Los tubos fueron incubados para investigar diariamente cambios citopatogénicos. En aquellos en que el suero específico protegía a las células del efecto citopatogénico, quedaba indicado el tipo de virus aislado. Algunas veces no se observa protección en ninguno de los tubos; esto puede indicar ya sea infección mixta que se prueba combinando los diferentes antisueros en nuevas pruebas de neutralización, o se trata de un Echovirus, o de un Coxsackie. En esos casos son necesarias otras pruebas adicionales empleando más tipos de antisuero.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados expuestos en la Tabla I, muestran de que en la epidemia de Iquitos fueron recuperados los tres tipos de poliovirus.

Tabla I

Aislamientos de virus de poliomieltis del brote epidémico de Iquitos

Muestra No.	Edad del paciente	Tipo de poliovirus
1	2a.	Negativo
2	1a.2m	III
3	1a.4m	III
4	1a.4m	II
5	3a.	II
6	2a.3m	I
7	1a.7m	Negativo

De acuerdo a los informes (5), esta epidemia comenzó en una área donde la fuente de agua fué contaminada con materias fecales de una letrina abierta que fué recientemente establecida en esa zona. El

hecho de aislar los tres tipos de virus, de los casos paralíticos, apoya la teoría de que la fuente de infección pudo ser un servicio común de agua, contaminado con materia fecal. Una vez que las infecciones se fueron estableciendo se pudieron diseminar en la población susceptible vía persona a persona, por contacto. Se tomaron muestras de agua de las áreas sospechosas con intentos infructuosos para aislar poliovirus. Como no era posible obtener una centrifuga de alta velocidad para concentrar el virus posiblemente presente en la muestra, los resultados negativos no son concluyentes. El agua ha sido implicada varias veces de ser la causa de diseminaciones de la poliomiélitis, pero hasta ahora no existe evidencia decisiva. Se aisló un virus tipo III de poliomiélitis, de un contacto asintomático.

Como se puede ver en la Tabla II, se recuperó en cuatro casos, virus del tipo I y uno del tipo III de poliomiélitis en pacientes del Hospital del Niño.

**Tabla II**

Aislamiento de poliovirus en casos de poliomiélitis en el Hospital del Niño de Lima \*

Muestra N°	Edad del paciente	Tipo de poliovirus aislado
500	8 m.	I
501	1a. 10 m.	I
502	2a. 10 m.	I
511	5 m.	I
512	1a. 3 m.	III

\* Se examinaron cinco especímenes adicionales de los que no se aisló el virus.

La recuperación del virus tipo I es predominante entre pacientes con poliomiélitis paralítica en áreas en que la enfermedad es endémica. Menos frecuentemente se aísla tipo III y muy raramente el tipo II. Sin embargo, en epidemias se puede encontrar cualquiera de estos tres tipos. Durante los últimos 8 años, se admitió un total de 712 casos de poliomiélitis paralítica en el Hospital del Niño de Lima. De esos, solamente 82

casos han sido de niños de más de 4 años de edad (6). Durante el presente año (1958), 91 de los 185 pacientes poliomiélicos ha sido del grupo de los de un año de edad. El grupo de niños de esta edad parece particularmente vulnerable, esto es debido en parte al hecho de que su adquisición de inmunidad pre-natal al virus ha expirado; otros factores que aumentan su susceptibilidad aún no han sido definidos.

Los estudios de seroinmunidad en la poliomiéлитis indican de que esos agentes están diseminados entre la población en que el saneamiento y la higiene personal son pobres. La enfermedad es predominantemente subclínica o inaparente dejando al individuo inmune a infecciones subsecuentes. Es estimado que solamente un caso entre 100 (otros aprecian que uno entre algunos miles) de infecciones, desarrollan el cuadro paralítico (7).

#### SUMARIO

Se ha aislado poliovirus de casos de poliomiéлитis paralítica de la epidemia de Iquitos. De siete muestras de heces, se aisló un poliovirus de tipo I, dos del tipo II y dos del tipo III. También se aisló un virus del tipo III de un contacto asintomático. Se presume que la fuente de infección pudo provenir de un servicio de agua recientemente contaminado con materias fecales; ésta puede ser la causa de la aparición de los tres tipos de virus en una sola epidemia.

Se aisló asimismo poliovirus de pacientes de poliomiéлитis paralítica del Hospital del Niño de Lima. En esos casos se recuperó un virus del tipo III y cuatro del tipo I.

#### SUMMARY

Polioviruses were isolated from cases of paralytic poliomyelitis which occurred in an Iquitos epidemic. From seven feces specimen, one Type I, two Type II, and Type III polioviruses were recovered. Also, one Type III virus was recovered from a contact who had no clinical symptoms. It is postulated that the source of infection could have been a common water supply recently contaminated with fecal material; this could account for the appearance of all three virus types in a single epidemic.

Polioviruses were also isolated from paralytic poliomyelitis patients in the Hospital del Niño de Lima. Four Type I and one Type III viruses were recovered from these patients.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.—SABIN, A. B. Paralytic consequences of poliomyelitis infection in different parts of the world and in different population groups. *A. J. Pub. Health*, **41**: 1215 (1951).
- 2.—ATKINS, JORGE. Datos inéditos (1958).
- 3.—MELNICK, J. L. Tissue culture methods for the cultivation of poliomyelitis and other viruses in **Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Diseases**. American Public Health Assoc., New York, 1956, pp. 97-151.
- 4.—ZITCER, E. M., FOGH, J., & DUNNEBACKE, T. H. Human amnion cells for large-scale production of poliovirus. *Science*, **122**: 30 (1955).
- 5.—Autoridades de Salud Pública citados en **La Prensa**, 12 de Agosto de 1958, p. 7.
- 6.—FILOMENO, G. Comunicación personal (1958).
- 7.—RHODES & VAN ROOYEN. **Textbook of Virology**. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1958. Chapter on poliomyelitis, pp. 397-477.