

Trabajos Originales

Actividad del virus de influenza humana en Medellín, Colombia, 1990-1993

María F. Toro, Jorge E. Ossa, Ana E. Arango, Luz Mila Acevedo, Abel Díaz

Para determinar la actividad del virus de influenza en Medellín y contribuir al programa universal de la Organización Mundial de la Salud (OMS), sobre la investigación de esta enfermedad, se realizó entre 1990-1993 un estudio serológico y virológico en población sana y en pacientes con infección respiratoria aguda (IRA), respectivamente.

En 1991 y 1992 se detectó un aumento en el porcentaje de individuos con anticuerpos contra el virus A/Taiwan/1/86 (H1N1). Este porcentaje disminuyó en el año 1993, pero en este mismo año se presentó el mayor número de individuos con anticuerpos contra otras dos cepas del mismo tipo viral: A/Sichuan/2/87 (HGRX- 97) y A/Shangai/16/89 (H3N2). También en los primeros meses de 1993 se encontró un porcentaje de individuos sanos con anticuerpos contra el virus A/Beijing/353/89 (H3N2), algo no detectado en el año anterior. Igualmente en el mes de enero de 1993 se aisló un virus A/Beijing/353/89, semejante al que circuló en Estados Unidos en 1992 y 1993. Para el virus de influenza tipo B, no se hallaron anticuerpos contra las cepas estudiadas: B/Victoria/2/87 y B/Panamá/45/90. No se descarta la posibilidad de que haya circulado otra cepa B diferente, que no pudo ser detectada.

También se incluyó la búsqueda de anticuerpos contra virus de influenza humana, en cerdos postinfección respiratoria aguda; los resultados fueron negativos.

El presente estudio nos muestra la circulación reciente, en nuestro medio, de varias cepas de influenza tipo A.

INTRODUCCION

El virus de la influenza es uno de los principales agentes etiológicos de infección respiratoria alta. Su control ha sido difícil debido a la gran variedad de cepas y a la habilidad que tiene el virus para cambiar antigénicamente (1). Se trata de un virus altamente contagioso, que se transmite fácilmente en aerosoles de secreciones respiratorias durante la fase aguda de la enfermedad. Los niños y los ancianos son los principales afectados, presentando estos últimos las mayores tasas de mortalidad. La complicación más importante es la neumonía que puede ser de tipo viral o bacteriana, asociada generalmente con otras condiciones médicas como afecciones cardiovasculares y pulmonares (2).

En el huésped infectado se producen anticuerpos contra el virus, unos específicos de cepa y otros que reaccionan en forma cruzada con las variantes de un subtipo. Los anticuerpos se detectan en la secreción nasal y en el suero y se dice que son protectores, especialmente los que reaccionan en forma específica. Sin embargo, esta respuesta se hace obsoleta cuando aparece una nueva variante (1,2).

El virus de influenza es un virus envuelto, que contiene cinco proteínas internas no glicosiladas: la nucleoproteína, la proteína de la matriz y tres polimerasas. De acuerdo con las diferencias

Dres. Mana Fabiola Toro C., Jorge Eliécer Ossa L., Ana Eugenia Arango R., Luz Mila Acevedo E.: Profesores Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; Dr. Abel Díaz C.: Profesor Departamento de Matemáticas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Profesor Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Solicitud de separatas a la Dra. Toro.

antigénicas en las dos primeras proteínas el virus se clasifica en tres tipos: A, B y C (1). Clínicamente en los humanos, el tipo A es el más agresivo (2). En la envoltura se encuentran dos glicoproteínas que son la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA). La HA facilita la unión y la entrada del virus a las células. La NA permite la penetración del virus a través de la capa de mucina. Ambas glicoproteínas pueden sufrir cambios antigénicos, pero se dice que el factor más importante en la infectividad del virus es la variación antigénica que se presenta en la HA (3). Las diferencias antigénicas en las glicoproteínas de superficie del virus de influenza A, son las responsables de la generación de varios subtipos. Se conocen 13 subtipos de HA (H1 a H13) y nueve de NA (N1 a N9) (1). La variación antigénica de estas dos moléculas en las cepas humanas de influenza, se produce por mutaciones en uno o más genes que codifican determinantes antigénicos en las glicoproteínas. La selección de estas mutantes parece estar dada por el sistema inmune (2).

La aparición de una nueva HA también puede ocurrir por mutaciones genéticas en las cepas virales de animales, lo cual las puede hacer infecciosas para los humanos (1).

Existe, además, un mecanismo importante en la aparición de un nuevo virus de influenza con una HA diferente. Esto se ocasiona por un intercambio de material genético entre cepas de humanos y cepas de animales. En muchos casos la cepa animal ha donado la HA (1,2).

También los virus de influenza pueden recircular después de mucho tiempo de haber sido detectados por primera vez, sin sufrir ninguna variación genética (1).

Muchos animales pueden ser considerados reservorios importantes de infección en humanos, ya que este virus se ha aislado de cerdos, caballos y aves domésticas y silvestres. Estos últimos con un gran potencial de diseminar el virus por todo el mundo a través de sus migraciones (2).

Existe un sistema de vigilancia de la influenza que tiene como lugar de referencia el Centro para el Control de las Enfermedades (CDC) en Atlanta, el cual conjuntamente con la OMS y los laboratorios

que colaboran con esta entidad, monitorean la actividad del virus en diferentes regiones del mundo (4). Los registros obtenidos en los últimos años señalan la presencia del virus de influenza en todo el mundo, a pesar de los esfuerzos que se han hecho para tratar de controlarlo (5-7).

El objetivo de este trabajo fue investigar la actividad del virus de influenza en la ciudad de Medellín, Colombia, entre los años de 1990-1993, mediante la detección de anticuerpos séricos en población sana y el aislamiento viral en individuos enfermos.

MATERIAL Y METODOS

Población de estudio

Para el estudio de anticuerpos se obtuvieron 297 muestras de suero de individuos adultos sanos de ambos sexos, la mayoría de ellos estudiantes de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia. En 1992 se investigó además la presencia de anticuerpos contra virus de influenza humana, en el suero de 23 cerdos de una granja cercana a esta ciudad, sospechosos de haber sufrido la enfermedad en el mismo año.

Para el aislamiento viral se tomaron muestras faríngeas de 93 individuos con IRA, en su mayoría niños que consultaron al Hospital Infantil San Vicente de Paúl y a un consultorio particular.

También se incluyeron personas adultas.

Detección de anticuerpos contra el virus de influenza

Se investigaron anticuerpos séricos contra los virus: A/Taiwan/1/86 (H1N1), A/Sichuan/2/87 (HGRX- 97), A/Shanghai/16/89 (H3N2), A/Beijing/353/89 (H3N2), B/Victoria/2/87 y B/Panamá/45/90, empleando para ello una prueba de inhibición de hemaglutinación, de acuerdo con el protocolo del CDC (8). Se hizo un tratamiento previo de los sueros problema con una enzima obtenida del *Vibrio cholerae* cepa 42 (donada por el CDC), para destruir inhibidores inespecíficos que pudieran afectar la prueba. Los sueros tratados con la enzima fueron colocados en pozos de microplatos (Dynatech Laboratories, Virginia, USA), en diluciones seriadas de 1/10 a 1/640. A cada dilución del suero se agregaron por separado los diferentes virus (dona-

dos por el CDC), en un título de cuatro unidades hemaglutinantes (4 UHA). Se incubó a temperatura ambiente/30 minutos, se adicionaron luego eritrocitos de pollo al 0.5% en solución de fosfatos (PBS) y se incubó nuevamente a temperatura ambiente hasta que el control de glóbulos rojos mostró un botón compacto en el fondo del pozo (aproximadamente una hora). Este control sólo contenía eritrocitos de pollo al 0.5% en PBS.

Aislamiento viral

Se tomaron muestras faríngeas con aplicadores de algodón humedecidos en solución de Hank (Gibco Laboratories, Grand Island, NY, USA) que luego se depositaron en tubos con la misma solución y se colocaron a 4°C/15 min. Después de este tiempo se removieron los aplicadores y las muestras se centrifugaron a 3.000 rpm/10 min, se colectaron los sobrenadantes, se les adicionaron antibióticos (penicilina-estreptomina) y se guardaron a -70°C hasta la realización de la prueba de aislamiento viral. Para esto se utilizaron dos métodos: inoculación en huevos embrionados (9) y siembras en una línea celular de riñón de perro (MDCK) (10).

Se utilizaron embriones de pollo de 10 días que se inocularon con 0.2 ml de cada una de las muestras, en el saco alantoideo y en la cavidad amniótica. Se incubaron a 37°C/3 días, luego a 4°C toda la noche y se obtuvieron los respectivos fluidos, a los cuales se les realizó la prueba de aglutinación con glóbulos rojos de pollo al 0.5% para detectar positividad en los aislamientos.

La única muestra positiva fue sometida a dos reinoculaciones en la cavidad alantoidea de huevos embrionados, para incrementar el título del virus y para obtener un mayor volumen de antígeno para las pruebas posteriores.

El aislamiento viral en las células MDCK se realizó depositando la muestra problema sobre la monocapa de un cultivo de células frescas, en presencia de medio 199 con tripsina (1 µg/ml) (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA). Se incubó 37.5% CO₂/cámara húmeda, durante 10 días, cambiando el medio de cultivo por medio fresco con tripsina, 24 horas y ocho días después de iniciado el cultivo.

Identificación del virus

Citometría de flujo. Este método se empleó para definir el tipo de virus A o B. Las células MDCK infectadas y no infectadas a una concentración de 2x10⁶/ml en PBS suplementado con 10% de suero bovino fetal y 20 µg de azida de sodio (Merck, Darmstad, Germany), fueron mezcladas por separado con anticuerpos monoclonales anti virus Influenza A y anti virus Influenza B (donados por el CDC), en una dilución 1/50 en el mismo PBS. Se incubaron 30 min/4°C, se lavaron dos veces con PBS conteniendo 2% de suero bovino fetal y 4 µg de azida de sodio y se centrifugó a 2.000 rpm/5 min. Al botón de células se agregó un anticuerpo preparado en conejo tipo Ig G dirigido contra gamaglobulinas de ratón conjugado a fluoresceína (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA). Se incubó nuevamente 30 min/4°C, se lavó dos veces y las células fueron resuspendidas en 2 ml de PBS para hacer la lectura en el citómetro de flujo (Becton Dickinson). Se hizo un control adicional colocando las células infectadas, únicamente en presencia del segundo anticuerpo marcado (11, 12).

Inhibición de hemaglutinación

Se realizó para definir el subtipo del virus. Se emplearon antisueros contra las cepas A/Taiwan/1/86, A/Beijing/353/89, B/Victoria/2/87 y B/Panamá/45/90 (donados por el CDC). Adicionalmente se utilizó un suero negativo como control. Los antisueros previamente tratados con la enzima destructora de inhibidores inespecíficos, se depositaron en pozos de microplatos y se mezclaron en forma independiente con 4 UHA de virus homólogo, heterólogo y el virus problema. Se incubó 30 minutos /temperatura ambiente y luego se adicionaron eritrocitos de pollo al 0.5% en PBS. Se incubó nuevamente a la misma temperatura hasta que el control de glóbulos rojos mostró un botón compacto. Se realizó otro control colocando cada antisuero en presencia solamente de glóbulos rojos de pollo, para detectar alguna aglutinación inespecífica. Este control fue negativo.

Análisis estadístico

Se realizó la prueba de Ji-cuadrado para comparar las proporciones de individuos con títulos de anticuerpos > 40, para las cepas de virus de influenza A/Taiwan/1/86, A/Sichuan/2/87 y A/Shanghai/16/89, en los diferentes años estudiados (13).

RESULTADOS

Anticuerpos contra el virus de influenza

Con el objetivo de investigar la actividad del virus de influenza en nuestro medio, entre los años 1990-1993 se hizo un estudio de anticuerpos séricos en población normal contra cuatro cepas de virus tipo A (Tablas 1, 2, 3 y 4) y dos cepas tipo B (Tablas 5 y 6). Se consideraron positivos los títulos iguales y mayores de 40 (14). Los porcentajes de individuos con anticuerpos positivos para la cepa A/Taiwan/1/86 (H1N1) para los años 1990, 1991, 1992 y 1993 fueron 18.7, 29.9, 27.5 y 4.1, respectivamente (Tablas 1 y 7). Hubo una diferencia estadísticamente significativa en los cuatro años ($p=0.002$), con un aumento en los años 1991 y 1992 y un descenso pronunciado en 1993. Con respecto a la cepa A/Sichuan/2/87 (HGRX- 97), los porcentajes fueron 5.1, 3.3, 2.5 y 14.2 para 1990, 1991, 1992 y 1993 respectivamente (Tablas

Tabla 1. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos para el virus de influenza A/Taiwan/1/86 (H1N1) (1990-1993).

Título anti-cuerpos	1990		1991		1992		1993	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
< 10	22	37.3	53	38.7	11	27.5	19	38.8
10	19	32.2	26	19.0	5	12.5	18	36.7
20	7	11.8	17	12.4	13	32.5	10	20.4
40	5	8.5	19	13.9	8	20.0	2	4.1
80	5	8.5	14	10.2	3	7.5	0	0.0
160	1	1.7	8	5.8	0	0.0	0	0.0
Total	59	100.0	137	100.0	40	100.0	49	100.0

Tabla 2. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos para el virus de influenza A/Sichuan/2/87 (HGRX- 97) (1990-1993).

Título anti-cuerpos	1990		1991		1992		1993	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
< 10	35	59.3	67	45.0	30	75.0	24	49.0
10	18	30.5	59	39.6	8	20.0	14	28.6
20	3	5.1	18	12.1	1	2.5	4	8.2
40	2	3.4	3	2.0	1	2.5	6	12.2
80	0	0.0	2	1.3	0	0.0	1	2.0
160	1	1.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Total	59	100.0	149	100.0	40	100.0	49	100.0

2 y 7). Se presentó un incremento estadísticamente significativo en el número de individuos con anticuerpos contra esta cepa en 1993 ($p=0.024$). Para la cepa A/Shanghai/16/89 (H3N2) los niveles de anticuerpos séricos correspondieron a 2.7, 2.5 y 16.3% en 1991, 1992 y 1993, respectivamente

Tabla 3. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos para el virus de influenza A/Shanghai/1/16/89 (H2N2) (1991-1993).

Título anti-cuerpos	1991		1992		1993	
	No.	%	No.	%	No.	%
<10	89	59.7	32	80.0	24	49.0
10	49	32.9	7	17.5	12	24.5
20	7	4.7	0	0.0	5	10.2
40	3	2.0	1	2.5	6	12.2
80	1	0.7	0	0.0	2	4.1
160	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Total	149	100.0	40	100.0	49	100.0

Tabla 4. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos para el virus de influenza A/Beijing/353/89 (H2N2) (1992-1993).

Título de anti-cuerpos	1992		1993	
	No.	%	No.	%
<10	36	90.0	26	53.1
10	3	7.5	14	28.5
20	1	2.5	5	10.2
40	0	0.0	2	4.1
80	0	0.0	2	4.1
160	0	0.0	0	0.0
Total	40	100.0	49	100.0

Tabla 5. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos para el virus de influenza B/Victoria/2/87 (1991-1992).

Título de anti-cuerpos	1991		1992	
	No.	%	No.	%
<10	118	79.2	37	92.5
10	27	18.1	3	7.5
20	3	2.0	0	0.0
40	1	0.7	0	0.0
80	0	0.0	0	0.0
160	0	0.0	0	0.0
Total	149	100.0	40	100.0

(Tablas 3 y 7). También acá hubo un aumento estadísticamente significativo en el porcentaje de individuos positivos en 1993 ($p=0.0009$). El estudio de anticuerpos contra la cepa A/Beijing/353/89 (H3N2) sólo pudo realizarse en los dos últimos años, encontrándose que en 1992 ningún suero fue positivo, la mayoría de los individuos (90%)

tenía títulos por debajo de 10 (Tabla 4). Pero en los tres primeros meses de 1993 se detectó un 8.2% de individuos con anticuerpos positivos para esta cepa (Tablas 4 y 7). Cuando se investigó la presencia de anticuerpos contra el virus de influenza tipo B en la población, no se pudo detectar positividad para los virus utilizados (B/Victoria/2/87 y B/Panamá/45/90 (Tablas 5, 6 y 7).

El estudio serológico realizado en cerdos también fue negativo, con valores menores de 10, para todos los virus analizados (datos no mostrados).

Aislamiento y caracterización del virus de influenza

De todas las muestras inoculadas en huevos embrionados y en células MDCK, sólo se pudo detectar una muestra positiva en cavidad alantoidea. Parte de este fluido se reinoculó en células MDCK para hacer la caracterización del tipo de virus mediante una prueba de inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales contra virus A y B, utilizando un citómetro de flujo. En la Figura 1 se muestran los datos en

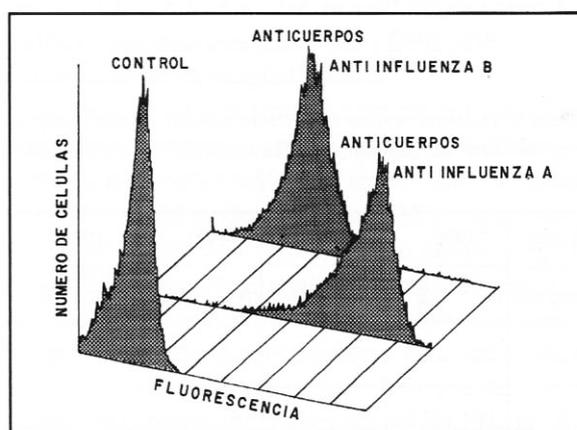


Figura 1. Caracterización del virus de influenza por citometría de flujo. La línea celular MDCK infectada con el virus problema, se trató en forma independiente con anticuerpos monoclonales anti influenza A y anti influenza B. El anticuerpo monoclonal unido fue detectado con una Ig C de conejo marcada con isotiocianato de fluoresceína, dirigida contra gamaglobulinas de ratón. El control contenía las células infectadas en presencia del segundo anticuerpo marcado. La gráfica muestra una mayor fluorescencia cuando las células fueron tratadas con el anticuerpo monoclonal anti influenza B.

Tabla 6. Distribución de los niveles séricos de anticuerpos para el virus de influenza B/Panamá/45/90 (1992-1993).

Título de anti-cuerpos	1992		1993	
	No.	%	No.	%
< 10	32	80.0	40	81.6
10	6	15.0	8	16.3
20	2	5.0	1	2.1
40	0	0.0	0	0.0
80	0	0.0	0	0.0
Total	40	100.0	49	100.0

Tabla 7. Porcentajes de sueros con títulos de anticuerpos ≥ 40 para distintas cepas del virus de influenza (1990-1993).

Virus	1990	1991	1992	1993
A/Taiwan/1/86	18.7	29.9	27.5	4.1
A/Sichuan/2/87	5.1	3.3	2.5	4.2
A/Shanghai/16/89	NR	2.7	2.5	16.3
A/Beijing/353/89	NR	NR	0.0	8.2
B/Victoria/2/87	NR	0.7	0.0	NR
B/Panamá/45/90	NR	NR	0.0	0.0
NR: No se realizó				

una forma tridimensional, en donde se aprecia la mayor fluorescencia cuando se trabajó con el anticuerpo contra el virus de influenza tipo A. La caracterización de la cepa viral, se realizó por medio de inhibición de hemaglutinación, enfrentando el fluido alantoideo que contenía el virus problema, con antisueros contra los virus: A/Taiwan/1/86, A/Beijing/353/89, B/Victoria/2/87 y B/Panamá/45/90. Los resultados mostraron que el virus problema solamente reaccionó con el antisuero A/Beijing/353/89 en un título semejante al virus homólogo con el mismo antisuero (Tabla 8).

DISCUSION

Los hallazgos de este estudio mostraron un porcentaje alto de individuos con anticuerpos contra el virus A/Taiwan/1/86 (H1N1) durante 1991 y 1992, con una disminución significativa en este porcentaje en 1993. Sin embargo, en los tres primeros meses de 1993 se presentó un gran número de individuos con anticuerpos contra A/Sichuan/2/87 (HGRX- 97) y A/Shanghai/16/89 (H3N2). Igualmente en este mismo año aparecieron personas con anticuerpos contra la cepa A/Beijing/353/89 (H3N2). Aunque los anticuerpos pueden permanecer por mucho tiempo en el suero después de la infección viral, títulos > 40 han sido utilizados como indicadores epidemiológicos de la circulación reciente del virus en una región (14). Con base en esto, podría decirse que en nuestro medio han circulado en los cuatro últimos años los virus de influenza: A/Taiwan/1/86 (H1N1), A/Sichuan/2/87 (HGRX- 97), A/Shanghai/16/89 (H3N2) y A/Beijing/353/89 (H3N2). Este último probablemente llegó a Medellín en 1993, ya que en 1992 no se detectaron anticuerpos contra esta cepa. Esto coincidió con el aislamiento de un virus A/Beijing/353/89 en enero de 1993.

Tabla 8. Caracterización de la cepa de virus de influenza por inhibición de hemaglutinación.

Antígeno	Antisueros			
	A/Taiwan/1/86	A/Beijing/353/89	B/Victoria/2/87	B/Panamá/45/90
A/Taiwan/1/86	320	<10	<10	<10
A/Beijing/353/89	<10	40	10	20
B/Victoria 2/87	<10	<10	80	10
B/Panamá/45/90	<10	<10	20	320
Virus Aislado	<10	40	<10	<10

Para el virus de influenza B no se detectaron anticuerpos contra las dos cepas estudiadas: B/Victoria/2/87 y B/Panamá/45/90.

Los informes del CDC señalan que desde 1989 hasta 1993 los virus de influenza que han predominado en todo el mundo han sido tipo A (H3N2) y tipo B (5), pero durante este tiempo también han circulado en bajo nivel, los virus A (H1N1), especialmente el virus A/Taiwan/1/86 (5-7, 11).

Con respecto a los virus A (H2N2), se reportaron en Estados Unidos en 1989 aislamientos de virus A/Sichuan/2/87 en un bajo nivel y un predominio de virus A/Shanghai/11/87 en este año y en 1990. Por esta época apareció en la China el virus A/Shanghai/16/89 (11, 15). En 1991 y 1992 el principal virus aislado en los Estados Unidos fue A/Beijing/353/89 (H3N2) (6); este mismo virus constituyó el 13% de los aislamientos tipo A en 1992 y 1993, 87% correspondió a la variante A/Beijing/32/92 (7).

Se puede decir que en Medellín, en los últimos cuatro años, han circulado los mismos virus que se han aislado en diferentes regiones del mundo. Llama la atención el alto porcentaje de individuos con anticuerpos positivos para A/Sichuan/2/87 y A/Shanghai/16/89 en el año 1993; se puede pensar en la presencia reciente de estos dos virus en la región o en una reacción cruzada con la cepa A/Beijing/353/89, ya que todos los individuos que tenían anticuerpos contra esta cepa, también fueron positivos para las cepas en mención. Sin embargo, no todos los sujetos que fueron positivos para A/Sichuan/2/87 y A/Shanghai/16/89 tenían anticuerpos para A/Beijing/353/89.

Con respecto a los virus de influenza tipo B, fueron pocos los aislamientos que se realizaron en otras partes del mundo durante 1989 y 1990. En esta época se detectaron los virus B/Victoria/2/87 y B/Yamagata/16/88, en Asia, Europa, Norteamérica y Suramérica (11). El número de aislamientos de este tipo de virus se incrementó en los años siguientes. En Estados Unidos entre 1990 y 1991, 86% de los virus de influenza reportados fueron tipo B, casi todos semejantes antigénicamente a la cepa B/Panamá/45/90 (16). En este mismo país a finales de 1992 y a princi-

pios de 1993 nuevamente predominó el virus tipo B, pero en esta ocasión se aisló la cepa B/Panamá/49/90 (7). Los informes en Estados Unidos reflejaron el comportamiento a nivel mundial (5), pero contrastan con el estudio hecho en Medellín, sobre todo con la cepa B/Panamá/45/90. Aunque el estudio de anticuerpos contra esta cepa solamente pudo realizarse en el año 1992 y en los primeros meses de 1993, se encontró que alrededor de 80% de la población presentó título de anticuerpos por debajo de 10. No se descarta la posibilidad de que los virus tipo B estudiados hayan circulado en nuestro medio y posiblemente lo hayan hecho antes de aparecer en otras regiones del mundo, pero también es probable que circulara la cepa B/Panamá/49/90. No se investigaron anticuerpos contra esta cepa por falta de reactivos.

El estudio de anticuerpos en cerdos contra las cepas de virus de influenza humana fue negativo. Tal vez el agente responsable de IRA en estos animales fue diferente al virus de influenza, pero también existe la posibilidad de un virus de influenza porcina, no reconocido por los anticuerpos dirigidos contra cepas humanas. Hubiera sido interesante tratar de aislar el virus en la secreción nasal de los animales, pero sólo se tuvo información de la infección a posteriori. La influenza en cerdos es una fuente importante de infección en humanos, como sucedió en 1988 en Wisconsin, Estados Unidos (17).

Con relación al aislamiento viral en humanos, es importante señalar que se presentaron algunas dificultades, en parte porque la infección respiratoria en varios pacientes fue debida a adenovirus y no a virus de influenza, como lo detectó otro grupo de investigadores que trabajó en forma paralela con las mismas muestras (18). Afortunadamente, se pudo aislar una cepa de influenza tipo A que reaccionó en la prueba de inhibición de hemaglutinación, en una forma similar a la cepa A/Beijing/353/89. El aislamiento viral es de suma importancia, porque se conoce así el tipo de virus que está circulando en una región en un momento determinado. Esta información enviada al CDC permitirá incluir los virus de mayor circulación y

las nuevas variantes, en protocolos de vacunación para tratar de controlar la morbilidad y la mortalidad en otras regiones, sobre todo en personas de alto riesgo, como los niños y los ancianos.

SUMMARY

Human influenza virus is still one of the major causes of acute respiratory infection throughout the world and is one of the few remaining agents with pandemic potential.

In Medellín, during 1991-1992 we detected a high frequency of seropositive individuals for the virus strain A/Taiwan /1/86 (H1N1). This frequency was lower for 1993 when two other strains were more prevalent: A/Sichuan/2/87 (HGRX-97) and A/Shanghai/16/89 (H3N2). Early in 1993, the strain A/Beijing /353/89 (H3N2), similar to the one circulating in the United States in 1992-1993 was isolated and some healthy individuals were found seropositive for this virus. There was no evidence of activity of influenza B virus, at least for the strains studied: B/Victoria/2/87 and B/Panama/45/90.

An attempt was made to find antibodies against some human influenza strains in pigs with acute respiratory disease, with negative results. This study documents the activity of influenza virus strains in Medellín and the data and viral isolates will be contributed to WHO for their monitoring of influenza activity and viral characterization throughout the world.

AGRADECIMIENTOS

Al CDC por la donación de los reactivos principales utilizados en el estudio.
Al Hospital Infantil San Vicente de Paúl, lugar donde se obtuvo el mayor número de pacientes para el aislamiento viral.

Al doctor Jorge Urreta por su colaboración con algunos pacientes de su consulta particular.

A todas las personas que fueron sujetos del estudio, por su gran colaboración.

A los doctores Fabio Nelson Zuluaga y Juan David Rodas, por la colaboración en la consecución de huevos embrionados y eritrocitos de pollo.

A los doctores María Eugenia Medina y Miguel Ángel Calderón, por la colaboración en la realización de la técnica de citometría de flujo.

A la Universidad de Antioquia, por la financiación de una parte del proyecto.

A Becton Dickinson por el citómetro de flujo que tenía en ese momento para demostración en la Sección de Inmunología, en el cual se pudo hacer parte de la caracterización viral.

REFERENCIAS

1. **Wilson IA.** Structural basis of immune recognition of Influenza virus hemagglutinin. In: Paul WE, Fathman CG, Metzger H. *Annual Rev Immunol. Annual Rev Inc.* Palo Alto, California, USA 1990; **8**:737-771.
2. **Murphy BR, Webster RG.** Orthomyxoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, et al. *Virology*, Second edition, Raven Press, Ltd., New York 1990; 1091-1152.
3. **Anderson PJ.** Factors promoting pathogenicity of influenza virus. *Semin Respir Infect* 1991; **6**: 3-10.
4. Center for Disease Control. Update: Influenza activity United States and worldwide 1992-93. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1992; **41**:939-945.
5. Center for Disease Control. Update: Influenza activity United States and worldwide, and comparison of the 1993- 94 Influenza Vaccine. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1993; **42**: 177-180.
6. **Kent JH, Chapman LE, Schmeltz LM, et al.** Influenza surveillance United States 1991- 92. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1992; **41**(SS-5): 35-43.
7. Center for Disease Control. Update: Influenza activity United States 1992-93 season. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1993; **42**: 385-387.
8. **Palmer DF, Coleman MT, Dowdle WR, Schild GS.** Advanced Laboratory techniques for influenza diagnosis U.S. Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta. 1975: 25-45.
9. **Palmer DF, Coleman MT, Dowdle WR, Schild GS.** Advanced Laboratory techniques for influenza diagnosis U.S. Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta. 1975: 11-22.
10. Board on Science and Technology for International Development (BOSTID). Manual of laboratory procedures for diagnosis of respiratory virus infections. BOSTID Research Grants Program on etiology and epidemiology of acute respiratory infections in children. Washington 1986:41-53.
11. Center for Disease Control. World Health Organization influenza hemagglutination inhibition reagents and monoclonal antibodies for use in indirect fluorescent antibody assays 1990-1991; 1-7.
12. **Riway JC.** Lymphocytes surface marker techniques in the routine pathology laboratory. *Medical Lab Science* 1984; **41**: 2446-2455.
13. **Zar JH.** Biostatistical Analysis. 2ed Enlewood, New Jersey: Prentice-Hall. INC. 1984: 40-60.
14. **Pérez MP, López C, Llacer et al.** La circulación del virus de influenza y su repercusión en los niveles de anticuerpos en el hombre. *Bol Sanit Panam* 1980; **89**: 113-123.
15. Center for Disease Control. World Health Organization influenza hemagglutination inhibition reagents and monoclonal antibodies for use in indirect fluorescent antibody assays 1989-1990: 1-7.
16. **Chapman LE, Tipple MA, Schmeltz LM, et al.** Influenza United States 1989-90 and 1990-91 seasons. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1992; **41**(SS-3): 35-46.
17. **Wells DL, Hopfensperger DJ, Arden NH, et al.** Swine influenza virus infections. Transmission from ill pigs to humans at a Wisconsin agricultural fair and subsequent probable person to person transmission. *Jama* 1991; **265**: 478-481.
18. **Arango AE, Quintero DL.** Detección de adenovirus en pacientes con enfermedad respiratoria aguda. *Temas Microbiológicos* 1991; **12**:7-10.