



Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas,  
Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado.  
Maestría en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles

Maestranda  
***Bqca. Ivana Rocío Magali Medina***

## **Epidemiología de la Enfermedad *Tipo Influenza* en la población que asiste al laboratorio de una obra social de la ciudad de Posadas**

**Tesis de Maestría presentada para obtener el título de “Magíster en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles”**

“Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto, queda sujeto al cumplimiento de la Ley N°26.899”.

Directora  
***Dra. Graciela Beatriz Jordá***  
Co-Directora  
***Dra. Karina Alejandra Salvatierra***

**Posadas, Misiones 2018**



Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



**FACULTAD DE CIENCIAS, EXACTAS, QUÍMICAS Y NATURALES**

**Maestría en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles**

*“Epidemiología de la Enfermedad Tipo Influenza en la población que asiste al laboratorio de una obra social de la ciudad de Posadas”*

**TESIS DE MAESTRIA**

AUTOR: Bqca. Ivana Rocío Magali Medina

DIRECTORA: Dra. Graciela Beatriz Jordá

CO-DIRECTORA: Dra. Karina Alejandra Salvatierra

AÑO 2018

*“Epidemiología de la Enfermedad Tipo Influenza en la población que asiste al laboratorio de una obra social de la ciudad de Posadas”*

**APROBADO**

*Jurados*

---

**Dr. Junir Lutinski**

---

**Mgter. Carlos Falkowski**

---

**Dra. Assunta Busato**

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Misiones por ofrecernos la oportunidad de continuar en nuestra formación académica y en especial a los docentes de la Maestría por su aporte al desarrollo académico y científico a la comunidad educativa.

A las instituciones vinculadas con el proyecto, Laboratorio del Instituto de Previsión Social de Misiones y Laboratorio de Microbiología Especializada de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, por brindar los recursos necesarios.

A mi directora Dra. Graciela Jordá y co-directora Dra. Karina Salvatierra, orientadoras de este proyecto, por sus enseñanzas, paciencia y acompañamiento.

A los profesionales que desempeñan su tarea en el Sector de Bacteriología del Laboratorio del Instituto de Previsión Social de Misiones, por su colaboración.

A todas las personas que de alguna manera fueron parte de este proyecto durante los 3 años.

## RESUMEN

Las enfermedades de transmisión respiratoria representan un riesgo substancial para la humanidad debido a su elevado potencial de diseminación; por su alta morbi-mortalidad constituyen uno de los problemas de salud pública más importante en todo el mundo. De etiología diversa, la causa más frecuente son los virus como Rinovirus, Influenza A (FLU A) e Influenza B (FLU B), Virus Sincicial Respiratorio (VSR), Adenovirus (ADV), Parainfluenza 1 a 3 (PI).

El objetivo de este trabajo fue identificar y describir la Enfermedad Tipo Influenza (ETI) y la circulación de virus respiratorios en pacientes de todas las edades que concurren al Laboratorio del Instituto de Previsión Social de Misiones en el período de Abril de 2015 a Octubre de 2017, inclusive. Se obtuvieron muestras de hisopados y aspirados nasofaríngeos de todos los pacientes que cumplieron con la definición de caso de ETI. La identificación de los agentes etiológicos se realizó mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para la detección de antígenos virales de ADV, FLU A, FLU B, VSR y PI 1-3. Se investigó FLU B y el gen de Hemaglutinina (HA) para subtipificar los virus FLU A mediante RT-PCR convencional.

Si bien la circulación de virus fue diferente en todas las temporadas, en este estudio durante el 2015 predominó FLU B, en 2016 FLU A (H1N1) pdm09 se detectó en la mayoría de los casos, y en el 2017 FLU A, identificándose ambas cepas de FLU A (H1N1) pdm09 y A (H3N2).

## ABSTRACT

The diseases of respiratory transmission represent a substantial risk for humanity due to their high dissemination potential; due to their high morbidity and mortality, they are one of the most important public health problems in the world. Of diverse etiology, the most frequent cause are viruses such as Rhinovirus, Influenza A (FLU A) and Influenza B (FLU B), Respiratory Syncytial Virus (RSV), Adenovirus (ADV), Parainfluenza 1 to 3 (PI).

The objective of this work was to identify and describe the Influenza Type Illness (ETI) and the circulation of respiratory viruses in patients of all ages who attended the Laboratory of the Social Security Institute of Misiones in the period from April 2015 to October 2017, inclusive. Samples of swabs and nasopharyngeal aspirates were obtained from all patients who met the definition of ETI case. The identification of the etiological agents was carried out by Indirect Immunofluorescence (IFI) for the detection of viral antigens of ADV, FLU A, FLU B, RSV and PI 1-3. FLU B and the hemagglutinin (HA) gene were investigated to subtype FLU A viruses by conventional RT-PCR.

While the circulation of viruses was different in all seasons, in this study during 2015 FLU B predominated, in 2016 FLU A (H1N1) pdm09 was detected in most cases, and in 2017 FLU A, identifying both strains of FLU A (H1N1) pdm09 and A (H3N2).

## TABLA DE CONTENIDOS

### CAPITULO I

1.1 INTRODUCCIÓN .....	14
1.1.1 AGENTES ETIOLÓGICOS.....	15
1.1.2 DIAGNOSTICO ETIOLÓGICO .....	24
1.2 ALCANCES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	25
1.3 OBJETIVO GENERAL .....	29
1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
1.5 JUSTIFICACIÓN .....	30

### CAPITULO II

2.1 ANTECEDENTES.....	34
-----------------------	----

### CAPITULO III

3.1 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN.....	43
3.1.1 Diseño del estudio: .....	43
3.1.2 Unidad de Análisis:.....	43
3.1.3 Población Objeto: .....	43
3.1.4 Definición de caso de ETI:.....	43
3.1.5 Criterio de Inclusión:.....	43
3.1.6 Análisis de Variables: .....	43
3.1.7 Análisis Estadístico:.....	44
3.1.8 Consideraciones Éticas: .....	44
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	45
3.2.1 Muestras Clínicas: .....	45
3.2.2 Muestras Controles: .....	45
3.2.3 Métodos Diagnósticos: .....	45
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	46
3.3.1 AÑO 2015 .....	46

3.3.1.1 Caracterización Clínico Epidemiológica de la Población estudiada .....	46
3.3.1.2 Caracterización de los Agentes Etiológicos.....	50
3.3.1.3 Caracterización Molecular de los Virus Influenza.....	53
3.3.2 AÑO 2016 .....	54
3.3.2.1 Caracterización Clínico Epidemiológica de la Población estudiada .....	54
3.3.2.2 Caracterización de los Agentes Etiológicos.....	58
3.3.2.3 Caracterización Molecular de los Virus Influenza.....	60
3.3.3 AÑO 2017 .....	61
3.3.3.1 Caracterización Clínico Epidemiológica de la Población estudiada .....	61
3.3.3.2 Caracterización de los Agentes Etiológicos.....	65
3.3.3.3 Caracterización Molecular de los Virus Influenza.....	67
3.4 CONCLUSIONES .....	69
3.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	71
CAPITULO IV	
4.1 ANEXO I.....	80
4.2 ANEXO II.....	81
4.3 ANEXO III.....	85



## LISTA DE TABLAS

**Tabla N°1.** Caracterización Clínica Epidemiológica de la Población. Análisis estadístico, año 2015

**Tabla N°2.** Caracterización Clínica Epidemiológica de la Población. Análisis estadístico, año 2016

**Tabla N°3.** Caracterización Clínica Epidemiológica de la Población. Análisis estadístico, año 2017

**Tabla N°4.** Patrones de fluorescencia – IFI

**Tabla N°5.** Primers utilizados para RT-PCR para la amplificación de virus FLU B

**Tabla N°6.** Primers utilizados para RT-PCR para la amplificación de virus FLU A H1N1 y H3N2

## LISTA DE FIGURAS

**Figura N°1.** Estructura del Virus Influenza.

**Figura N°2.** Estructura del Adenovirus.

**Figura N°3.** Estructura del Virus Sincicial Respiratorio.

**Figura N°4.** Estructura del Virus Parainfluenza.

**Figura N°5.** Distribución de casos de ETI estudiados por el laboratorio según Semana Epidemiológica. Año 2015.

**Figura N°6.** Distribución de casos positivos y negativos por grupos etarios: IFI. Año 2015.

**Figura N°7.** Distribución porcentual de virus respiratorios identificados. SE14 a 48, año 2015.

**Figura N°8.** Distribución de casos positivos de virus respiratorios por grupos de edad. SE14 a 48, año 2015.

**Figura N°9.** Distribución proporcional virus respiratorios en los casos positivos, población menor de 5 años.

**Figura N°10.** Distribución de casos de ETI estudiados por el laboratorio según Semana Epidemiológica. Año 2016.

**Figura N°11.** Distribución de casos positivos y negativos por grupos etarios: IFI. Año 2016.

**Figura N°12.** Distribución porcentual de virus respiratorios identificados. SE14 a 48, año 2016.

**Figura N°13.** Distribución de casos positivos de virus respiratorios por grupos de edad. SE14 a 48, año 2016.

**Figura N°14.** Distribución proporcional de virus respiratorios en los casos positivos, población de 19 a 64 años.

**Figura N°15.** Distribución de casos de ETI estudiados por el laboratorio según Semana Epidemiológica. Año 2017.

**Figura N°16.** Distribución de casos positivos y negativos por grupos etarios: IFI. Año 2017.

**Figura N°17.** Distribución porcentual de virus respiratorios identificados. SE14 a 48, año 2017.

**Figura N°18.** Distribución de casos positivos de virus respiratorios por grupos de edad. SE14 a 48, año 2017.

**Figura N°19.** Distribución proporcional de virus respiratorios en los casos positivos, población de 19 a 64 años.

**Figura N°20.** Células negativas (A) y positivas (B). IFI. 40x.

**Figura N°21.** Electroforesis de los productos de la RT-PCR del gen HA1.

## LISTA DE ABREVIATURAS

**IRAs.** Infecciones Respiratorias Agudas

**ADN.** Acido desoxirribonucleico

**ADV.** Adenovirus

**ANF.** Aspirado nasofaríngeo

**ARN.** Ácido Ribonucleico

**ARNasa.** Ribonucleasa

**AS.** Ácido Siálico

**C2.** Módulo de Vigilancia Clínica

**CDC.** Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

**dNTPs.** Desoxinucleótido trifosfato

**EE.UU.** Estados Unidos

**ELISA.** Enzimoinmunoensayo

**ETI.** Enfermedad Tipo Influenza

**Fa.** Frecuencia absoluta

**FCEQyN.** Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales

**FITC.** Isotiocianato de fluoresceína

**FLU A.** Influenza A

**FLU B.** Influenza B

**FLU C.** Influenza C

**Fr.** Frecuencia Relativa

**GISRS.** Sistema Mundial de Vigilancia y Respuesta a la Gripe

**HA.** Hemaglutinina

**IC.** Intervalo de Confianza

**IF.** Inmunofluorescencia

**IFI.** Inmunofluorescencia Indirecta

**INE.** Instituto Nacional de Epidemiología

**INEI-ANLIS.** Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas- Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud Dr. Carlos Malbrán

**IPSM.** Instituto de Previsión Social de Misiones

**MPV.** Metapneumovirus Humano

**n.** Número

**NA.** Neuraminidasa

**NP.** Nucleoproteína

**OMS.** Organización Mundial de la Salud

**OPS.** Organización Panamericana de la Salud

**OR.** ODDS RATIO

**PBS.** Solución Salina tamponada con fosfato

**PCR.** Reacción en Cadena de la Polimerasa

**pdm09.** Pandemia 2009

**PMO.** Programa Medico Obligatorio

**PI.** Parainfluenza

**RT-PCR.** Transcripción reversa seguida de Reacción en Cadena de la Polimerasa

**SARS.** Síndrome Respiratorio Agudo Grave

**SE.** Semana Epidemiológica

**SISA.** Sistema Integrado de Información Sanitaria

**SIVILA.** Sistema de Vigilancia por Laboratorios

**SNVS.** Sistema Nacional de Vigilancia en Salud

**TP.** Proteína terminal

**UC.** Unidad Centinela

**UCETI.** Unidad Centinela de Enfermedad Tipo Influenza

**UNaM.** Universidad Nacional de Misiones

**VC.** Vigilancia Centinela

**VSR.** Virus Sincial Respiratorio

# CAPÍTULO I

---

## 1.1 INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas (IRAs) son una de las principales causas de consultas médicas y de hospitalización en niños, ancianos y en pacientes inmunocomprometidos, con mayor frecuencia durante las estaciones de otoño e invierno. Estas enfermedades afectan a toda la población pero, fundamentalmente a los extremos de la vida, es decir a aquellas personas menores de 5 y mayores de 65 años<sup>1,2</sup>.

Las IRAs se definen como un conjunto de padecimientos infecciosos de las vías respiratorias con evolución menor a 15 días y que pueden estar acompañadas de una amplia gama de signos y síntomas relacionados con el aparato respiratorio tales como tos, rinorrea, obstrucción nasal, odinofagia, disfonía o dificultad respiratoria, y a su vez pueden o no ir seguidos de fiebre<sup>3</sup>. La rinitis, la faringitis, y la otitis media aguda son los cuadros más frecuentes; la mayoría de origen viral. Las IRAs se clasifican en altas o bajas, según afecten el tracto respiratorio superior o inferior respectivamente. Las IRAs altas afectan los órganos ubicados por encima de la laringe y los cuadros clínicos pueden ser rinitis, laringitis supraglótica, faringitis, sinusitis y otitis. Las IRAs bajas afectan los órganos ubicados por debajo de la laringe y los cuadros son: laringitis subglótica, laringotraqueobronquitis, traqueítis, bronquitis, bronquiolitis y neumonía.

Los virus productores de IRAs penetran por la mucosa del tracto respiratorio, replican en él y producen cuadros respiratorios de diferente gravedad. La infección ocurre habitualmente por inhalación de aerosoles con gotitas de flugge o por gotas mayores, contaminadas con secreciones infectadas. Presentan un periodo de incubación corto (1-4 días) y se diseminan de persona a persona por aerosoles y fómites. La inmunidad contra estos virus no es completa y son frecuentes las reinfecciones. Las sobreinfecciones bacterianas suelen ser una complicación frecuente de las infecciones inicialmente virales.

Las IRAs altas presentan una alta morbilidad. Se estima que cada niño sufre de 6 a 9 episodios por año, mientras que los adolescentes y adultos padecen de 2 a



4 episodios en este período; en cambio las IRAs bajas son menos frecuentes pero su costo es mucho mayor, ya que un 1.8% de niños en edad escolar y hasta el 13% de los niños en edad preescolar requieren hospitalización.

La etiología de las IRAs puede ser de diverso origen: viral, bacteriano, por micoplasmas, clamidias, rickettsias, hongos, y con menor frecuencia, parásitos. Pero la causa más frecuente son los virus y las bacterias. Entre los virus más frecuentes que pueden afectar al ser humano tenemos: Influenza A (FLU A) y B (FLU B), Virus Sincicial Respiratorio (VSR), Adenovirus (ADV), Parainfluenza 1-4 (PI); y su epidemiología varía de acuerdo al área geográfica. En la Argentina, los brotes epidémicos por VSR se registran todos los años durante las estaciones de otoño e invierno; los de influenza tienen una similar distribución y, a veces, se extienden hasta la primavera. Los ADV y los PI suelen ser más frecuentes en primavera <sup>4</sup>.

### 1.1.1 AGENTES ETIOLÓGICOS

**Virus Influenza:** La familia *Orthomyxoviridae* incluye 4 géneros asociados a la patología humana:

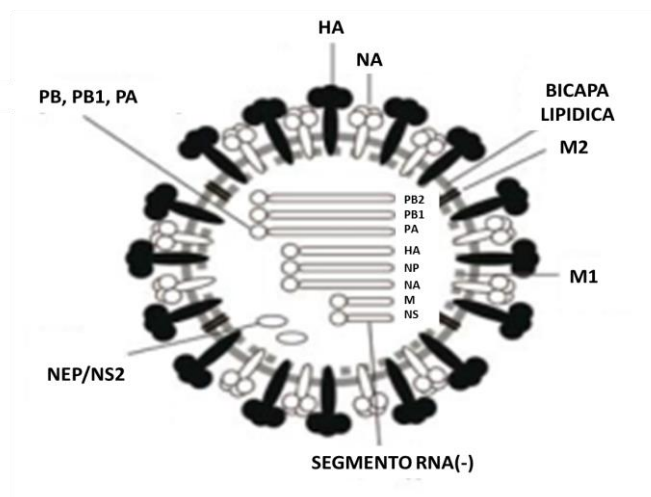
- a- Influenzavirus A; especie tipo: virus FLU A
- b- Influenzavirus B; especie tipo: virus FLU B
- c- Influenzavirus C; especie tipo: virus FLU C
- d- Thogotovirus; especie tipo: virus Thogoto.

Mientras que los virus FLU B y FLU C están prácticamente restringidos al hombre, la mayoría de los FLU A infectan especies aviares y solamente unos pocos subtipos infectan al hombre y otros animales, particularmente cerdos y caballos. Los virus FLU A y FLU B son los de mayor interés en salud humana<sup>5</sup>.

Son agentes envueltos y su genoma se encuentra segmentado en porciones de ARN de cadena única con polaridad negativa. Las diferencias antigénicas en las proteínas matriz (M1) y nucleoproteína (NP) permiten clasificarlos en 3 tipos: A, B y C. Los virus del tipo A, a su vez, pueden ser subtipificados en base a las

características antigénicas de las glicoproteínas de superficie, hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA). Hasta el momento se conocen 16 subtipos de HA (H1 a H16) y 9 subtipos de NA (N1 a N9) del virus FLU A<sup>6</sup>. El sistema de nomenclatura los nombra de acuerdo con varios factores: el tipo de virus, el hospedero de origen (excepto en los humanos), el sitio geográfico, el número de cepa, el año de aislamiento y los subtipos de HA y NA (solamente se indican en FLU A); por ejemplo, el virus A/swine/lowa/15/30 (H1N1) describe a un virus FLU A aislado de cerdos “swine” en Iowa en 1930, con número de cepa 15 y subtipo H1N1<sup>7</sup>.

Poseen una estructura compleja cubierta por una membrana de lípidos proveniente de la célula hospedera. En esta envoltura se encuentran ancladas las moléculas HA y NA, y las proteínas M2 (en caso de FLU A) que se proyectan en la superficie viral. La proteína M1 de matriz se encuentra debajo de la envoltura y en el centro de la partícula viral se encuentran los ocho segmentos de ARN viral, las polimerasas PA, PB1 y PB2 necesarias para la replicación del virus, la nucleoproteína NP y las proteínas no estructurales NEP/NS2<sup>8,9</sup>.



**Figura N°1.** Estructura del Virus Influenza.

**Fuente:** Talledo, M y Zumaeta, K. *Rev. peru biol. [online]. 2009, vol.16, n.2, pp.227-238. ISSN 1727-9933.*

La HA es la proteína responsable de la adhesión del virus a la célula y de la fusión de las membranas viral y celular<sup>10</sup>. Los virus influenza utilizan como

receptor las moléculas de ácido sálico (AS) presentes en la superficie de las células y unidas a un azúcar por medio de uniones  $\alpha 2,6$  (virus humanos) o de uniones  $\alpha 2,3$  (virus aviares)<sup>11</sup>. El epitelio de la tráquea de los humanos posee más frecuentemente los residuos AS $\alpha 2,6$ GAL, en tanto que el epitelio del intestino de los patos posee en su mayoría los residuos  $\alpha 2,3$ GAL; esto les confiere cierto grado de especificidad a los virus, aunque no es absoluta, ya que algunas células humanas y aviares pueden tener ambos residuos de AS<sup>12, 13</sup>.

Estos virus tienen la capacidad de acumular mutaciones y causar epidemias recurrentes cada año. Su genoma fragmentado permite el intercambio de genes en forma parcial o completa entre cepas diferentes que estén en una misma célula, lo cual los hace más adaptables a otras especies y ayuda a evadir la respuesta inmune del hospedero o la especificidad de una vacuna administrada previamente<sup>14</sup>.

En los mamíferos, el virus presenta mutaciones permanentemente en su genoma viral, ya que carece de mecanismos reparadores de los errores que comete la enzima ARN polimerasa viral y, como consecuencia, uno o varios nucleótidos pueden ser adicionados, cambiados o eliminados. Estas mutaciones puntuales se van acumulando a través de ciclos replicativos, hasta que finalmente dan origen a una cepa lo suficientemente distinta de las anteriores, como para provocar una nueva epidemia. Cualquiera de los genes del virus puede sufrir estas mutaciones; sin embargo, el gen HA y el NA son los más susceptibles. Las mutaciones son también más frecuentes en los humanos que en las aves o en los cerdos, pues en estos hospederos el virus se encuentra mejor adaptado que en la especie humana. Este mecanismo es conocido como cambio menor o “*antigenic drift*”<sup>15</sup>.

En el cambio antigénico mayor o “*antigenic shift*” se introduce un nuevo subtipo de HA o NA en la población humana. Estas nuevas proteínas son inmunológicamente diferentes a las de las otras cepas que han circulado previamente favoreciendo la infección en la población que carece de anticuerpos contra ellas, lo cual puede originar pandemias. En el siglo pasado se presentaron

cuatro cambios antigénicos mayores: en 1918, cuando aparecieron los virus H1N1 que causaron la “influenza española”; en 1957, cuando el subtipo H1N1 fue reemplazado por los virus H2N2, el cual causó la “influenza asiática”; en 1968, cuando el virus H3N2 reemplazó el H2N2, generando la “influenza de Hong Kong”; y en 1977, cuando reapareció el subtipo H1N1, originando la “influenza rusa”. El cambio antigénico mayor es usualmente el resultado de un reordenamiento genético entre virus humanos y aviares<sup>16</sup>; sin embargo, también puede presentarse un reordenamiento genético entre virus humanos, aviares y porcinos, como sucedió con el virus H1N1 que está circulando desde el 2009<sup>17</sup>.

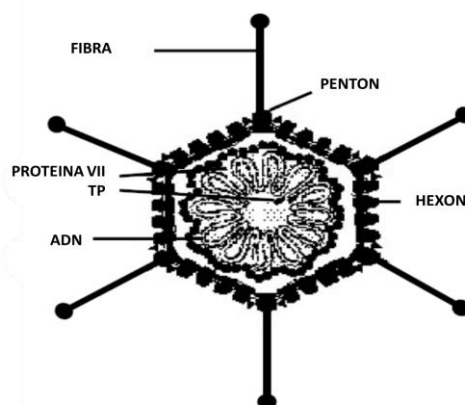
En el hemisferio norte, las epidemias se presentan usualmente entre enero y abril, en tanto que en el hemisferio sur ocurren entre mayo y septiembre; en las regiones tropicales y subtropicales las epidemias coinciden con la época de lluvias. Las mayores tasas de mortalidad por influenza se presentan en los mayores de 65 años y en las personas que tienen enfermedad de base, en tanto que las mayores tasas de morbilidad se presentan usualmente en los niños menores de 2 años y en las mujeres gestantes<sup>18, 19</sup>. En los ancianos el virus causa neumonía que se complica con enfermedad cardíaca congestiva incrementando en este grupo etario el riesgo de mortalidad<sup>20, 21, 22</sup>. La gravedad de la infección depende del nivel de inmunidad pre-existente, la edad de la persona y el grado de virulencia del virus<sup>23</sup>. La diseminación del virus se produce por medio de gotas que se forman durante el estornudo y la tos<sup>24</sup>. Es una enfermedad altamente contagiosa que puede variar clínicamente desde las formas asintomáticas hasta neumonías graves con riesgo de muerte. Usualmente se manifiesta como una enfermedad respiratoria con síntomas que incluyen fiebre alta y malestar general<sup>25</sup>.

**Adenovirus:** descrito por primera vez como agente viral único en 1953 por Rowe et al., mientras intentaban establecer cultivos celulares de amígdalas y tejido adenoideo, actualmente se reconoce que los adenovirus causan con más frecuencia enfermedades del tracto respiratorio, sin embargo dependiendo del serotipo infectante, puede causar otras enfermedades como gastroenteritis, conjuntivitis, cistitis, hepatitis y exantema. El espectro clínico de la enfermedad del

tracto respiratorio va desde un cuadro de rinofaringitis hasta un cuadro de neumonía fulminante<sup>26</sup>. Para algunos serotipos, el cuadro clínico varía dependiendo del lugar de la infección, así tenemos que el serotipo 7 adquirido por inhalación está asociado con enfermedad severa del tracto respiratorio inferior, mientras que la transmisión oral del mismo serotipo causa infección asintomática o enfermedad leve. Son endémicos en la población pediátrica, se menciona que son responsables de hasta el 10% de las infecciones del tracto respiratorio, y causan el 10% de casos de gastroenteritis aguda<sup>27</sup>.

Son virus ADN, que pertenecen a la familia *Adenoviridae* y al género *Mastadenovirus*<sup>28</sup>. Los ADV Humano se dividen en 6 géneros designados y clasificados de la A a la F, basados en su habilidad para la aglutinación y se subdividen además en 47 serotipos, de los cuales alrededor de 33% se asocian a enfermedad<sup>29, 30</sup>. Posee un diámetro de 60-90 nm y se caracteriza por no poseer cubierta externa. El virión tiene forma icosaédrica compuesta de una cápside proteica constituida por 252 capsómeros, que representa el 87% del peso y un núcleo que contiene el genoma de ADN viral y 4 proteínas internas<sup>31</sup>.

De los 252 capsómeros, 240 son hexones y 12 son pentones. Los hexones se disponen conformando los lados de la superficie icosaédrica y los pentones conforman los vértices (Figura 2).



**Figura N°2.** Estructura del Adenovirus.

**Fuente:** Bernaola G y Luque W. *Paediatrica*, Volumen 4, N° 2, Oct. 2001 - Mar. 2002.

Una glicoproteína denominada fibra protruye desde el centro de cada pentón. Tanto los hexones, como los pentones y la fibra están compuestos por proteínas específicas. El núcleo del virión está formado por un ADN lineal de doble cadena que tiene capacidad para codificar entre 30-40 genes<sup>32</sup>. Además en el núcleo tenemos las siguientes proteínas:

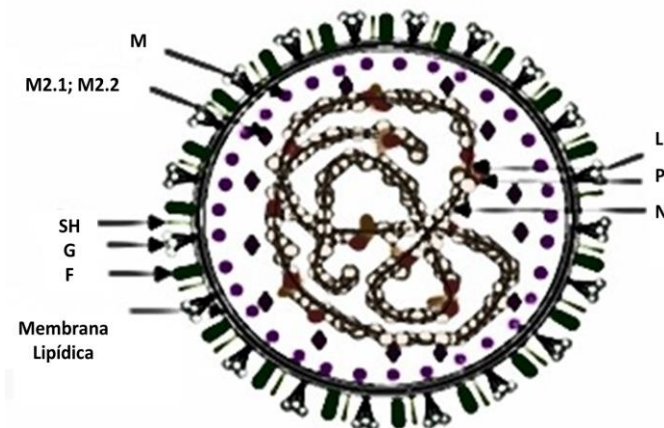
- Proteína terminal (TP), se encuentra al final del genoma e interviene en la replicación.
- Proteínas básicas V, VII; similares a las histonas, estabilizan el ADN.
- Proteína Mu, proteína pequeña transactivadora<sup>31</sup>.

Se transmiten por contacto directo, vía fecal-oral, inhalatoria y ocasionalmente a través de aguas estancadas. Tiene especial predilección por las células epiteliales, afectando a casi todas las mucosas<sup>31</sup>. Son causa frecuente de infecciones del tracto respiratorio en niños, pero muchas de estas infecciones son subclínicas o resultan en enfermedades leves, pero en algunos casos causan enfermedad severa<sup>33</sup>. El espectro de manifestaciones clínicas de los distintos serotipos de adenovirus es muy amplio y muchas veces se superponen. Los serotipos causantes de enfermedad respiratoria aguda, luego de un periodo de incubación de 5-7 días, el paciente desarrolla fiebre, faringitis, laringitis, traqueítis y tos no productiva, el proceso inflamatorio puede extenderse a los bronquios, bronquiólos y parénquima pulmonar, la enfermedad se resuelve en un periodo de 10 a 20 días. La neumonía se da en el 10-20% de casos. La neumonía grave alcanza su frecuencia máxima en niños cuyas edades oscilan entre 3 y 18 meses de edad<sup>31</sup>.

**Virus Sincicial Respiratorio:** pertenece a la familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Pneumovirinae*, género *Pneumovirus*. Se aisló por primera vez en 1956 al analizarse muestras obtenidas de un chimpancé con síntomas respiratorios; se lo denominó “agente de la coriza del chimpancé”. Posteriormente se lo recuperó de dos niños con neumonía y crup en EE UU. A partir de allí, este nuevo virus se

reconoció como un patógeno humano y se denominó Virus Sincicial Respiratorio debido a su capacidad para formar sincicios en células de cultivo<sup>34</sup>.

Son virus pleomórficos, con envoltura, con una nucleocápside helicoidal que contiene una molécula única de ARN genómico, no segmentado y de polaridad negativa y que replican en el citoplasma. El genoma contiene 10 genes que codifican para 11 proteínas. En la nucleocápside, la nucleoproteína N, la fosfoproteína P, la polimerasa L y el factor antiterminador M2-1 se encuentran asociados al ARN genómico para formar la replicasa viral. La nucleocápside está cubierta por una envoltura que contiene 3 glicoproteínas de transmembrana: la proteína de unión al receptor (G), la proteína de fusión (F) y la proteína pequeña hidrofóbica (SH). La proteína matriz M forma una cubierta proteica en la cara interna de la envoltura. Existen dos proteínas no estructurales, NS1 y NS2, que se detectaron en significativa cantidad en células infectadas, pero de las que en los viriones solo se hallaron trazas. Ambas proteínas, actuando en cooperación obligatoria, median la resistencia del virus a los interferones  $\alpha$  y  $\beta$ <sup>34</sup>.



**Figura N°3.** Estructura del Virus Sincicial Respiratorio.

**Fuente:**

<http://www.medwave.cl/medios/medwave/octubre2008/reuniones/dos/MessengerFig1.jpg>

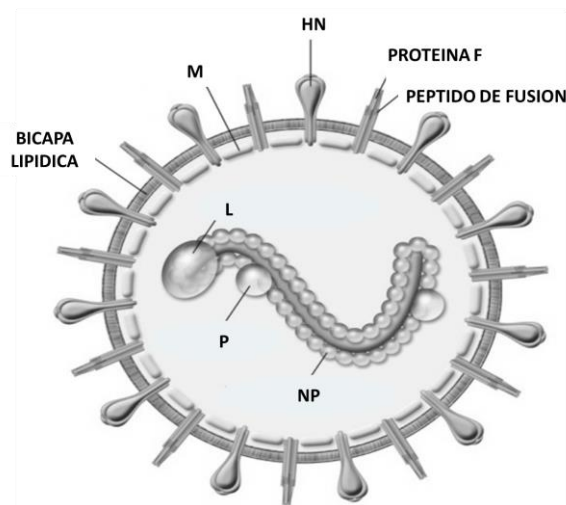
El VSR es el patógeno más importante en las IRAs en niños pequeños, tanto por su frecuencia como por su gravedad. Además, constituye la principal causa de hospitalización por IRA baja en lactantes, siendo el agente causal primordial de las bronquiolitis del lactante en todo el mundo. También produce IRAs altas, tanto

en niños como en adultos. Luego de un periodo de incubación de 4-5 días, la enfermedad comienza como IRA alta (rinitis, faringitis, etc.); sin embargo, en aproximadamente la mitad de los lactantes este virus no queda localizado en el tracto respiratorio alto sino que puede diseminarse en 3 a 4 días al tracto bajo produciendo IRA baja: bronquitis, bronquiolitis y neumonía. La primo infección, que ocurre habitualmente antes del año de vida, suele ser más grave que las reinfecciones. La replicación viral en la mucosa del tracto alto produce cuadros leves, frecuentes en niños de 3-5 años, en niños mayores y en adultos, los que suelen ser indistinguibles del resfrío común<sup>35</sup>.

**Parainfluenza:** son agentes importantes de infección del tracto respiratorio alto y bajo en niños y adultos<sup>36, 37, 38, 39</sup>. Luego de su identificación en 1959, han sido establecidos como causa frecuente de enfermedad respiratoria en niños menores de 2 años de edad, manifestándose como síndromes respiratorios leves (caracterizados por coriza, tos y fiebre), o cuadros de mayor gravedad como croup, bronquiolitis, traqueobronquitis y neumonía<sup>37, 40</sup>. Se reconoce que en sujetos con condiciones crónicas de base, como inmunocomprometidos o post-trasplantes, las infecciones pueden ser graves y eventualmente mortales<sup>36, 41</sup>.

Son virus ARN de hebra simple, polaridad negativa, que pertenecen a la familia *Paramixoviridae*<sup>42</sup>. Los serotipos 1, 2 y 3 son los más importantes desde el punto de vista médico<sup>42, 43, 44</sup>.





**Figura N°4.** Estructura del Virus Parainfluenza.

**Fuente:**

<http://dm5migu4zj3pb.cloudfront.net/manuscripts/25000/25669/medium/JCI0525669.f1.jpg>

Las manifestaciones clínicas dependen específicamente del serotipo; sin embargo, también es importante la edad del paciente, el estado inmune y el momento epidemiológico del año<sup>37, 42, 45, 46</sup>. Los serotipos 1 y 2 se presentan con más frecuencia en verano y primavera en el hemisferio norte, infectando preferentemente a niños pre-escolares, a diferencia del serotipo 3 que infecta a pacientes de todas las edades, sin preferencias<sup>37, 40</sup>. La desnutrición, hacinamiento, déficit de vitamina A, falta de lactancia materna y exposición a humo de tabaco, son factores que favorecen la infección<sup>47, 48</sup>, como así también el estado clínico, edad del niño y la estación del año. El croup viral (laringotraqueobronquitis) puede representar hasta 25% de las infecciones respiratorias bajas en los niños menores de 5 años de edad<sup>49</sup>. El agente responsable puede ser identificado usualmente en 50% de los casos, predominando el serotipo 1<sup>46, 49, 50, 51</sup>. En adultos la infección es usualmente asintomática o autolimitada al tracto respiratorio alto. Al menos 30% de los pacientes con trasplante de precursores hematopoyéticos y 18% de los adultos de la comunidad desarrollan infecciones por virus respiratorios en algún momento<sup>42</sup>, siendo el serotipo 3, probablemente, el más virulento.

La incidencia de bronquiolitis durante el primer año de la vida llega hasta 80%, para desaparecer en la edad escolar. Hasta 30% de las infecciones respiratorias bajas en niños pueden ser bronquiolitis, pero este porcentaje es evidentemente mayor durante el primer año de vida<sup>52</sup>. La tasa de identificación viral en estos cuadros puede ser tan alta como 83%<sup>51</sup>.

### 1.1.2 DIAGNOSTICO ETIOLÓGICO

El diagnóstico clínico de las IRAs no permite precisar la etiología, ya que muchos signos y síntomas son similares en las infecciones virales. Para realizar un correcto diagnóstico etiológico, son de elección los métodos directos que permiten detectar el virus infeccioso (aislamiento en cultivo), sus antígenos (IFI, ELISA, etc.) o su genoma (PCR, RT-PCR, PCR en tiempo real) ya que los métodos serológicos poseen escaso valor diagnóstico. Para ello es importante que las muestras se obtengan en los primeros 5 días del comienzo de los síntomas, ya que las posibilidades de detección son menores posteriormente; de su correcta obtención depende el éxito del diagnóstico<sup>4</sup>.

El aspirado nasofaríngeo (ANF) es la muestra de elección, ya que los virus respiratorios replican en el tejido linfoide de la nasofaringe y el mucus contiene gran cantidad de células con antígenos virales; sin embargo suele emplearse únicamente en pacientes internados. En pacientes ambulatorios, existen otras muestras de más fácil obtención y con resultados adecuados; como los hisopados nasofaríngeos y los hisopados nasales y faríngeos combinados. Todas las muestras obtenidas deben conservarse a 4°C y enviarse dentro de las 24 horas al laboratorio, preferentemente refrigeradas, de forma que se pueda evitar la inactivación térmica de los virus<sup>4</sup>.

## 1.2 ALCANCES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Las enfermedades de transmisión respiratoria representan un riesgo substancial para la humanidad debido a su elevado potencial de diseminación, pudiendo producir altas tasas de morbilidad y mortalidad.

En los últimos cien años han ocurrido varios eventos de enfermedades respiratorias; por ejemplo la pandemia de influenza de 1918 conocida como “gripe española”, la pandemia de 1957 o “gripe Asiática,” la pandemia de 1968 o “gripe de Hong Kong”, en 2003 el Síndrome respiratorio agudo grave (SARS) y por último la pandemia de influenza A (H1N1) en el año 2009.

La influenza o gripe es de distribución universal y afecta a la población mundial. Las epidemias de influenza aparecen comúnmente en los meses de otoño-invierno con predominio de lugares donde el clima es frío y seco, permitiendo que el virus permanezca en el ambiente por más tiempo. Cada año, en el mundo, alrededor de 500 millones de personas (10% de la población total), se enferma de influenza, ocasionando entre 3 y 5 millones de casos graves y unas 500 mil defunciones. Habitualmente, en Argentina, el periodo de mayor circulación del virus de influenza estacional se extiende desde la semana epidemiológica 21 (fines del mes de mayo) hasta la semana epidemiológica 30 (fines del mes de julio).

El 24 de abril de 2009 la Organización Mundial de la Salud (OMS), alertó sobre la existencia de varios centenares de casos humanos sospechosos de estar afectados por una cepa de virus Influenza que no había circulado previamente. Significó la primera pandemia de influenza desde el año 1968 debido a su rápida diseminación. Este virus pandémico comenzó a circular en la Argentina en mayo de 2009 y durante el año 2010, generó en nuestro país más de 12.000 casos confirmados y más de 600 defunciones. La pandemia de Influenza 2009, ocasionada por el nuevo virus de Influenza pandémica (H1N1) no modificó el patrón de ocurrencia de la enfermedad ya que el pico de notificación de casos se registró en las mismas semanas epidemiológicas que años anteriores, aunque los

casos notificados de Enfermedad Tipo Influenza (ETI) presentaron un aumento con respecto a los dos años anteriores, un 18,5% más que en el 2007 y un 28% más que en 2008, según los datos del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud (SNVS).

El 11 de junio de 2009, la OMS declaró a nivel mundial que la infección por el virus de influenza pandémica A (H1N1) 2009 estaba diseminada entre humanos en más de dos continentes del mundo. Hasta el 10 de agosto del 2010, fecha en que la OMS declara el fin de la pandemia, más de 213 países en todos los continentes reportaron casos confirmados, incluyendo 18.449 defunciones por el nuevo virus. De ellas, 8.557 ocurrieron en la región de las Américas. La fase post pandémica no significa que el virus influenza A (H1N1) haya desaparecido. En ese momento se presumió que este virus se comportaría como un agente gripal estacional que seguiría circulando durante varios años<sup>53</sup>, tal como ocurre en la actualidad.

La mayoría de las muertes por enfermedades respiratorias ocurren antes del año de edad, especialmente entre los dos y tres meses. El 20% de la mortalidad infantil en algunas regiones de Argentina es domiciliaria, representando un alto porcentaje de infecciones respiratorias bajas. El 60% de los niños menores de 1 año y el 50% de los menores de 5 años, padecen por lo menos un episodio de IRA al año.

En la población económicamente activa, de 20 a 65 años de edad, las enfermedades del sistema respiratorio representan la cuarta causa de mortalidad. Ocurren mayoritariamente en personas de sexo masculino, ubicadas luego de los tumores, las enfermedades del sistema circulatorio y las causas externas; siendo la neumonía la principal causa de muerte por enfermedades respiratorias<sup>54</sup>.

El principal objetivo de los métodos de diagnóstico etiológico de los virus respiratorios es poder actuar precozmente en el tratamiento de la enfermedad respiratoria. La importancia de realizar un correcto diagnóstico etiológico de las IRAs radica en poder recomendar el uso de antivirales, reducir o racionalizar el uso innecesario de antibióticos, y adoptar las medidas de higiene y control a fin de

impedir la transmisión horizontal. Las técnicas tradicionales para el diagnóstico de los virus respiratorios siguen estando todavía vigentes, aunque los métodos moleculares aplicados al diagnóstico de la infección viral respiratoria han provocado una auténtica revolución.

Las técnicas moleculares tienen como principales ventajas, entre otras, una excelente sensibilidad, especificidad, capacidad de detección de virus emergentes, capacidad para detectar múltiples dianas en un mismo ensayo y posibilidad de automatización. Esta metodología ha permitido profundizar el papel de los virus en las IRAs al poner de manifiesto la existencia de agentes no conocidos previamente.

Los métodos moleculares y no moleculares de diagnóstico rápido para uno o más virus respiratorios han permitido la toma de decisiones de forma inmediata en el manejo del paciente mejorando su pronóstico y evitando la transmisión nosocomial. Sin embargo, también hay inconvenientes; la mayor sensibilidad de las técnicas moleculares ha supuesto un incremento significativo de la tasa de co-detecciones múltiples de virus respiratorios, cuya implicancia clínica resulta difícil de interpretar<sup>55</sup>.

El aislamiento o detección de los virus respiratorios está altamente condicionado al tipo de muestra utilizada y a su conservación y transporte. Estos factores explicarían la gran variabilidad observada en los estudios de incidencia para los diferentes virus respiratorios publicados hasta el momento. El análisis de las características del virus y de la enfermedad desde perspectivas socio-clínico epidemiológicas es fundamental para definir estrategias adecuadas para su prevención y control.

La inmunidad no dura más de un año, lo que unido a la variación antigénica, hace necesario revacunar cada año. Con dicho objeto la OMS organizó en 1947 una red internacional de laboratorios para vigilar la emergencia de nuevas cepas virales y hacer recomendaciones a la industria farmacéutica sobre los antígenos a incluir en las formulaciones anuales. Anualmente la composición de las vacunas antigripales puede modificarse teniendo en cuenta la información enviada de los

diferentes países del mundo con respecto a la circulación, caracterización y estudio de los diferentes tipos virales <sup>61</sup>. La vacuna inactivada actual incluye dos cepas de influenza A (H1N1 y H3N2) y una de influenza B<sup>83</sup>.

En Argentina y Misiones la estrategia preventiva de mayor importancia frente al virus FLU incluye a la vacuna antigripal en el Calendario Nacional de Vacunación desde el año 2011, con el propósito de disminuir las internaciones, complicaciones, secuelas y mortalidad en la población en riesgo. Se encuentra disponible de manera gratuita y con criterios de grupos de riesgo bien definidos: personal de salud, embarazadas en cualquier trimestre de la gestación, puérperas hasta el egreso de la maternidad, máximo 10 días (si no recibieron la vacuna durante el embarazo), niños de seis a veinticuatro meses, personas entre 2 y 64 años con factores de riesgo y mayores de 65 años<sup>62</sup>. Por sus características de distribución y variación genética la influenza no representa una enfermedad erradicable.

Las IRAs constituyen una de las primeras causas de morbi-mortalidad en todo el mundo, ocasionando en períodos invernales elevada carga de enfermedad que satura los servicios de salud y la capacidad de internación. Además, las epidemias de influenza se asocian con un aumento de mortalidad por encima de los valores esperados. Se estima que la enfermedad puede afectar en períodos epidémicos entre 10 al 20% en población general pero puede elevarse al 50% en comunidades cerradas. Las tasas de morbilidad más elevadas se esperan en los niños y jóvenes llegando a valores del 35% aproximadamente. En los adultos y mayores la tasa ronda entre el 10 al 15%. Las tasas de hospitalización son más elevadas en los grupos de riesgo. El costo socio-económico es elevado por ser causa de ausentismo laboral y escolar, alto e inadecuado consumo de medicamentos y costo de asistencia ambulatoria e internación. Por lo general se producen aumentos en la mortalidad general en los períodos epidémicos indicando su impacto. Este aumento no solo es debido a neumonías, sino también a otras enfermedades cardio-pulmonares y enfermedades crónicas que pueden ser exacerbadas por la infección con el virus<sup>56</sup>.

Por todo ello, podemos inferir que el conocimiento de las características de la circulación de los virus respiratorios permite adoptar medidas adecuadas para la prevención y el tratamiento de la enfermedad. Por otro lado, la detección y caracterización molecular temprana de estos virus permite actualizar la vacuna anualmente con los subtipos circulantes durante ese año, en esa región y por esta razón, la OMS ha establecido una Red Mundial de Vigilancia de virus influenza que permita obtener información para la elaboración anual de la vacuna apropiada para el hemisferio norte y sur, y estar alertas en caso de epidemias y/o una nueva pandemia<sup>83</sup>.

### **1.3 OBJETIVO GENERAL**

Identificar y describir la Enfermedad Tipo Influenza y la circulación de virus respiratorios en pacientes de todas las edades que concurren al Laboratorio del Instituto de Previsión Social de Misiones en el período de Abril de 2015 y Noviembre de 2017.

### **1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar y describir a la población estudiada desde el punto de vista clínico-epidemiológico.
- Identificar y caracterizar la frecuencia de aparición de casos de Enfermedad Tipo Influenza por semana epidemiológica.
- Identificar los virus respiratorios por Inmunofluorescencia Indirecta en la población estudiada.
- Detectar virus influenza A y B mediante técnicas de biología molecular.

## 1.5 JUSTIFICACIÓN

El abordaje de las IRAs permite tomar decisiones respecto a la organización de los servicios de salud en todos los niveles de atención, para dar una respuesta apropiada al incremento de la demanda de atención, tanto ambulatoria como hospitalaria. Permite la planificación de las actividades de prevención y control, y la detección de situaciones epidémicas o de brotes.

La vigilancia epidemiológica de las IRAs resulta esencial para detectar precozmente el incremento del número de casos, la identificación de los grupos poblacionales afectados, la frecuencia, distribución y características de los agentes etiológicos involucrados<sup>57</sup>.

El abordaje epidemiológico permite, además, detectar brotes de enfermedades respiratorias virales inusuales o inesperadas, describir la magnitud de las enfermedades respiratorias y la distribución de casos por grupos de edad, tiempo y lugar geográfico, con el objetivo de orientar las políticas para la prevención y control, entre ellas la composición de la vacuna de influenza y los grupos prioritarios a vacunar.

El Instituto de Previsión Social de Misiones (IPSM) nuclea a 180618 afiliados provenientes de toda la provincia, quienes disponen de manera gratuita el acceso a distintos servicios médico-asistenciales y cobertura en diferentes prestaciones acorde al Programa Médico Obligatorio (PMO) y a la legislación vigente. Dentro de las prestaciones de cobertura se encuentran los servicios de análisis clínicos llevados a cabo en el Laboratorio del IPSM. Desde el año 2015, el mismo ha incorporado el diagnóstico de Virus Respiratorios a través de convenios con la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (FCEQyN), por lo que este trabajo resulta inédito en el ámbito del IPSM, ya que hasta el presente el mismo ha demostrado dificultades y falencias en las actividades de Vigilancia y Notificación de estas patologías en relación a la normativa vigente, de carácter Nacional y Provincial.



La Inmunofluorescencia es un método virológico rápido que permite realizar screening e identificación de virus respiratorios. Es un método muy utilizado ya que permite una detección rápida, sensible y específica en el laboratorio. Actualmente, se cuenta con paneles de screening e identificación que permiten la detección simultánea de aquellos virus que constituyen los principales agentes etiológicos de importancia médica. La utilidad de este método radica en la pronta aplicación de un tratamiento específico. Esto toma mayor relevancia en aquellos agentes que tienen tratamiento disponible, como el virus influenza cuyo diagnóstico precoz e inicio de terapia determinan la evolución y pronóstico del paciente. Si bien la literatura actualmente describe la utilidad de los métodos moleculares por sobre los métodos de detección tradicional de virus respiratorios en términos de su sensibilidad y especificidad, no hay que desestimar el valioso aporte de la inmunofluorescencia, sobre todo en aquellos lugares donde aún no se ha podido implementar el desarrollo de técnicas moleculares.

En Argentina y en particular Misiones las patologías respiratorias son la principal causa de internación, y resulta una de las cuatro primeras causas de muerte en todas las edades. El virus FLU de gran variabilidad y potencial pandémico es un agente de prioridad en las acciones de identificación y caracterización genómica del sistema de vigilancia.

El propósito de este estudio y de la vigilancia de las ETI, es obtener información que permita actualizar, en base a evidencias científicas, el conocimiento sobre el comportamiento de estas patologías en la población que concurre a los servicios de la obra social para atención médica.

Debido a que la epidemiología de la ETI en regiones tropicales, subtropicales todavía no se conoce de manera fehaciente como en otras partes del mundo, es necesario disponer de información de esta región de la Provincia de Misiones caracterizada geográficamente como una región subtropical.

La identificación de los grupos de afiliados al IPSM afectados, la frecuencia, distribución y características de los agentes etiológicos involucrados permite tomar decisiones sobre la organización de los servicios y de este modo planificar

las actividades de prevención y control, en particular es de importancia la detección de situaciones epidémicas o de brotes identificando los distintos agentes etiológicos virales o bacterianos involucrados.

En la región no se han realizado trabajos de esta índole, por lo que no se dispone de información fehaciente o la misma muestra un notable subregistro respecto al número de casos verdaderos.

## CAPÍTULO II

---

## 2.1 ANTECEDENTES

Los virus influenza son agentes patógenos de gran importancia para la salud pública, ya que especialmente el virus FLU A está asociado a un incremento en las consultas médicas, en las tasas de hospitalización y de mortalidad<sup>58, 59</sup>. Como el potencial epidémico de estos virus depende principalmente de las variaciones antigénicas, la vigilancia virológica es fundamental; tanto es así que en el año 1947 la OMS implementó la vigilancia viral como objetivo principal para identificar los virus circulantes que permitieran la formulación anual de la vacuna<sup>60</sup>.

Dada la naturaleza constantemente cambiante de los virus de la gripe, el Sistema Mundial de Vigilancia y Respuesta a la Gripe (GISRS) —una red de Centros Nacionales de la Gripe y Centros Colaboradores de la OMS en todo el mundo— hace un seguimiento constante de los virus circulantes que afectan al ser humano y actualiza la composición de las vacunas antigripales dos veces al año. En febrero informa la composición para el Hemisferio Norte y en septiembre para el Hemisferio Sur<sup>61</sup>. Anualmente la composición de las vacunas antigripales puede modificarse teniendo en cuenta la información enviada de los diferentes países del mundo con respecto a la circulación, caracterización y estudio de los diferentes tipos virales.

Muchos países<sup>63, 64, 65, 66</sup> han establecido programas de vigilancia virológica y clínica para monitorear la actividad de la ETI, basados en variadas estrategias de vigilancia, destacándose la Vigilancia Centinela (VC) en la práctica médica general. La OMS define la VC como aquella basada en la recolección de datos de una muestra que son utilizados como datos de lo que ocurre en la población de referencia, para identificar casos de enfermedad de forma temprana y para datos indicativos de la tendencia de una enfermedad o evento de salud. La VC surge como respuesta a problemas de los Sistemas de Vigilancia universales que tradicionalmente se utilizaban, destacándose el subregistro en los datos de mortalidad y morbilidad y el retraso en su presentación, elementos que repercuten grandemente en la elaboración de los programas de salud y en la toma de

decisiones a corto plazo; la información disponible para el sector salud se refiere sólo a la población que tiene acceso y acude a los servicios, desconociéndose los problemas del resto de los habitantes; la recolección excesiva de datos implica demasiado tiempo para su análisis e incorporación en el proceso de planificación, lo que dificulta la generación de un proceso más dinámico entre las decisiones y las acciones que puedan contribuir a mejorar la salud.

Es por ello que surge la VC como una metodología más sencilla, ágil, económica, específica y oportuna. Permitiendo además la identificación de un mayor número de variables de los eventos bajo vigilancia lo cual favorece al mejor análisis de sus características.

Sabemos que el propósito de todo Sistema de Vigilancia, es obtener información que permita actualizar, con base a evidencias científicas el conocimiento sobre el comportamiento de los eventos relacionados con la salud de una población, en un tiempo y espacio correctamente definido.

El Protocolo Genérico para la Vigilancia de la Influenza (OPS-CDC) presentado a nivel mundial como borrador en 2006 y discutido en la Argentina en 2007, tenía como propósito el fortalecimiento de la vigilancia de la enfermedad puesto que su epidemiología era aún desconocida. Su finalidad era prestar apoyo a los Estados Miembros de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para mejorar la vigilancia de la influenza integrando los componentes epidemiológicos y de laboratorio en un sistema único<sup>56</sup>.

Según el Documento Técnico de OPS de 2009, *“la importancia de la enfermedad causada por el virus de la influenza está en su morbi-mortalidad. El virus tiene una gran capacidad de diseminarse de persona a persona y de producir rápidamente una epidemia, además de poder evolucionar para formas graves que requieren hospitalización y resultar en defunciones”*. La Guía Operativa para la vigilancia centinela de la ETI e IRAG elaborado por la OPS, que fuera presentada a los países de la Región de las Américas junto con a dicho documento, refiere que *“los casos más graves y las defunciones se producen principalmente en los niños, los ancianos y las personas debilitadas con*

*enfermedades crónicas e inmunodepresión y se calcula que la mortalidad anual por influenza a nivel mundial llega a un millón de personas. Además de la influenza estacional, la aparición en seres humanos de nuevos virus de la influenza con nuevas proteínas de superficie puede ocasionar pandemias que se convierten en emergencias sanitarias de carácter mundial”<sup>56</sup>.*

Los antecedentes del desarrollo de la Vigilancia de la Influenza en la Argentina sobrepasaban los objetivos y metodologías propuestas por dicho Protocolo por lo cual aunque se respetaban y aplicaban sus lineamientos generales se continuó desarrollando las estrategias de Unidades Centinela (UC) para la vigilancia de las ETI, perfeccionando la vigilancia clínica mediante la notificación universal oportuna de casos clínicos de Gripe, Neumonías y Bronquiolitis y la vigilancia de la circulación viral mediante Redes de Laboratorio. En paralelo en Argentina se trabajó en la implementación de una red de UC para la Vigilancia de las Neumonías en pacientes internados en los cuales entre las diferentes etiologías se investigaba la presencia de virus respiratorios, especialmente virus Influenza<sup>56</sup>.

A mediados del 2003, tomando la experiencia acumulada por una iniciativa de vigilancia con Médicos Centinela desarrollada desde finales de la década del 90 por el Laboratorio de Influenza del INE Jara en la Ciudad de Mar del Plata y en otras localidades del país, se constituyó la primera Unidad Centinela de Enfermedad Tipo Influenza (UCETI) con médicos que trabajaban en los Centros de Salud de la Municipalidad de Mar del Plata, provincia de Buenos Aires. El proceso de implementación de UC no se pudo completar oportunamente, pues al terminar el Proyecto Vigi+A, no se continuó con el monitoreo y evaluación de las UCETI implementadas lo cual ocasionó la salida de funcionamiento de muchas de ellas<sup>56</sup>.

Durante varios años, las UCETI que habían seguido funcionando, empezaron a detectar casos entre los meses de marzo y abril, pero en 2009 la emergencia por H1N1 se comunicó internacionalmente antes que en el país comenzara el brote estacional de ETI. El proceso de preparación para la respuesta a la influenza pandémica hizo que el recurso humano y otras capacidades de las UCETI se dispusieran para compartir su tiempo con los Servicios de Salud para la respuesta

y esto debilitó su funcionamiento y afectó la oportunidad de la detección en el inicio del brote. No obstante Argentina diagnosticó su primer caso en mayo del 2009 en la ciudad de Madryn provincia de Chubut y luego de 20 días comenzó el brote por Influenza pandémica en la ciudad de Buenos Aires. Luego de un período inicial en el cual las UCETI comenzaron lentamente su labor, las mismas produjeron una información muy importante para el conocimiento de la dinámica de la circulación viral y las características de los casos de la pandemia<sup>56</sup>.

Durante el 2009 en la República Argentina, se estudiaron cerca de 29.000 muestras y se confirmaron aproximadamente unos 12.000 casos de Influenza H1N1 pandémica. La confirmación de los casos se centralizó inicialmente en el Centro Nacional de Influenza Carlos G. Malbrán y luego se descentralizó a otros 19 laboratorios, entre ellos al laboratorio ubicado en el Hospital Pediátrico Dr. Fernando Barreyro, Posadas, perteneciente a la Red de Virus Respiratorios de nuestro país. Hasta la semana epidemiológica 51 del año 2009, los virus de Influenza H1N1 pandémica e Influenza A sin subtipificar, sumados, representaron el 93,05% del total de virus respiratorios notificados en pacientes de 5 años o más. En cambio, en los menores de 5 años estos virus representaban solo el 22.13% del total de virus notificados, siendo el Virus Sincicial Respiratorio el más prevalente para ese grupo, un 66.24%<sup>56</sup>.

En ese año, y como parte de la estrategia de monitoreo de la pandemia se inició la notificación de las IRAG desde las instituciones hospitalarias, reportándose 14.084 pacientes internados por esta causa, confirmándose 617 personas fallecidas a causa del virus Influenza H1N1 pandémico<sup>56</sup>.

En la actualidad en la Argentina existen tres centros Nacionales de Influenza reconocidos por la OMS: el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI), el Instituto de Virología “Dr. M. Vanella” de la Universidad de Córdoba y el laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Epidemiología “Dr. J. Jara” (INE) de Mar del Plata; todos trabajando en forma conjunta con el Ministerio de Salud de la Nación<sup>67</sup>.

La obtención de los datos de vigilancia epidemiológica se realiza mediante diferentes sistemas: 1-Sistema de Notificación Obligatoria de Casos, 2-Vigilancia Viroológica por los tres Centros Nacionales de Influenza y la Red Nacional de Laboratorios de Influenza y Virus Respiratorios, 3-Vigilancia por el Sistema de Médicos Centinela. Los tres centros actúan como referencia de los laboratorios denunciadores de casos y realizan el aislamiento viral, la subtipificación y la caracterización antigénica y molecular de los virus aislados <sup>67</sup>.

A nivel nacional, la información proveniente de los módulos de Vigilancia Clínica (C2) y del Sistema Nacional de Vigilancia por Laboratorios (SIVILA) se integra en el SNVS, se analiza para la vigilancia epidemiológica y luego se informa a la comunidad a través del Boletín Integrado de Vigilancia<sup>68</sup>.

Las IRAs constituyen uno de los problemas de salud pública más importantes, y se encuentran dentro de las primeras 5 causas de mortalidad en la población infantil hasta 5 años. Todos los años se verifica un progresivo aumento de los casos de IRAs en la época invernal, el que comienza habitualmente alrededor de la semana epidemiológica (SE) 16<sup>57</sup>.

Si bien los virus son los agentes que con mayor frecuencia producen IRA a todas las edades, comparativamente son más comunes en niños que en adultos y causan cuadros más graves en grupos de riesgo, como menores de 2 años, ancianos, inmunosuprimidos y pacientes con comorbilidades<sup>70, 71</sup>. En estos pacientes es fundamental encontrar técnicas diagnósticas rápidas, sensibles y precisas, especialmente en el estudio de infecciones respiratorias bajas<sup>72</sup>.

El Ministerio de Salud de la Nación recomienda el diagnóstico virológico para la vigilancia epidemiológica de la ETI en todos aquellos pacientes internados que tienen indicación de tratamiento antiviral para guiar la conducta terapéutica según lo consignado en las recomendaciones de tratamiento antiviral<sup>69</sup>, o bien todo paciente que cumpla con la definición de Caso de ETI. En ambas situaciones se debe realizar panel respiratorio por Inmunofluorescencia (IF), y si resultase negativo se deberá estudiar para Influenza por técnicas moleculares.



Es importante el diagnóstico de laboratorio de las IRAs, ya que el diagnóstico clínico no permite precisar la etiología, debido a que muchos virus pueden producir cuadros clínicos similares. El diagnóstico de laboratorio de las IRAs de origen viral, disponibles en la actualidad tiene un alto impacto en el manejo del paciente y en la prevención de la diseminación de estos virus. Numerosas publicaciones demuestran el costo/beneficio de realizar estos diagnósticos.

El diagnóstico rápido de virus respiratorios en pacientes internados permite reducir hasta una 50% el tiempo de estadía en el hospital y hasta un 30% el uso de antibióticos innecesarios. Además, contribuye a la administración de antivirales específicos, conocer la situación epidemiológica en una comunidad y disponer de información para futuras vacunas<sup>73</sup>.

Toda la información epidemiológica brindada por el Sistema de Vigilancia se basa entonces en los estudios realizados por los centros de referencia, lo cual nos lleva a pensar que dicha información se encuentra sesgada, debido al subregistro que ello implica ya que no todos los laboratorios del país se encuentran interconectados a dichos centros. En la provincia de Misiones, no todos los centros laboratoriales notifican los casos estudiados.

Aunque existe una amplia variedad de métodos de diagnóstico virológico disponibles en el mercado, el acceso de la población a los mismos se encuentra limitado debido a los altos costos que ello implica.

Hace aproximadamente 20 años en Posadas se comenzó a diagnosticar virus respiratorios mediante la técnica de IFI, en el Hospital Público de Pediatría “Dr. Fernando Barreyro”.

En el año 2009 y a raíz de la pandemia originada por una nueva cepa de influenza A, actualmente denominada influenza A (H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>) pdm09, se comenzó a diagnosticar la presencia del virus influenza mediante técnicas moleculares. Para ello fue fundamental el uso de la infraestructura y equipamiento con que contaba el Laboratorio del Departamento de Microbiología de la carrera de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales.

A partir del año 2011, la red Nacional de laboratorios distribuyó equipos de PCR Real Time a 11 provincias, una de las beneficiadas fue Misiones.

Al presente, en la provincia de Misiones se llega a diagnosticar solamente Influenza A y/o B utilizando cualquiera de las dos metodologías ya sea PCR convencional o Real Time PCR pero no se llega a la subtipificación debido que se amplifica solamente el gen M.

*Kusznierz y col (2014)*, en la provincia de Santa Fe se dedicaron a analizar datos provenientes de las UC durante siete estaciones, desde el 2005 al 2010, observando que existieron seis períodos de circulación de FLU A y un período de circulación de FLU B. Durante el 2005 co-circularon virus FLU A y B, mientras que en 2010 se registró una primera onda de circulación de virus FLU A y cuatro semanas más tarde, una segunda onda de circulación de FLU B. El patrón estacional de circulación del virus durante el período estudiado indicó que los brotes se presentaron con intervalos aproximados de un año durante la época invernal, con picos máximos en semanas tan tempranas como la SE23, así como en las semanas SE26 y SE27, coincidiendo con los meses de junio, julio y con una duración de 5,5 semanas (mediana). Sin embargo, durante el 2010 el máximo indicador se registró a fines de agosto (SE33) coincidiendo con la circulación de virus FLU B, registrándose además una segunda ola a partir de la SE43 debida a virus FLU A (H3N2), correspondiendo a los meses cálidos (primavera y verano), sin detectarse un aumento de las ETI por encima de la línea de base.

Sin embargo la mayoría de las publicaciones se centran en la población susceptible, principalmente en menores de 5 años, por ejemplo el estudio realizado por *Vidaurreta Santiago Manuel y col (2011)* entre los meses de junio de 2008 y mayo de 2009, utilizando IFI como método diagnóstico. Entre sus resultados se puede ver que los virus observados con mayor frecuencia fueron el Rinovirus detectado en 131 pacientes (38%), VSR en 97 (28%) y el Metapneumovirus Humano (MPV) en 19 (5,5%); y en menor frecuencia se detectaron PI (3,5%), FLU A (3%), FLU B (3%), y ADV (2,8%).

En la provincia de Salta, *Raskovsky V. y col (2017)*<sup>84</sup> estudiaron, en un diseño similar a la presente investigación, casos de IRA en individuos de todas las edades, ambulatorio e internado, entre el 1 de enero de 2010 y el 31 de diciembre de 2016. El diagnóstico de los virus respiratorios se realizó mediante IF y RT-PCR en tiempo real. Obtuvieron las siguientes prevalencias generales: ADV 0,8%, PI 3,1%, VSR 23,2%, FLU 12,2%. En todos los años detectaron con mayor frecuencia FLU A respecto a FLU B.

## CAPÍTULO III

---

### 3.1 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

**3.1.1 Diseño del estudio:** Se realizó un estudio descriptivo transversal durante tres periodos estacionales (otoño, invierno y primavera) entre los meses de Abril a Noviembre de los años 2015, 2016 y 2017.

**3.1.2 Unidad de Análisis:** representada por cada paciente que concurrió al laboratorio con pedido de estudio de virus respiratorios.

**3.1.3 Población Objeto:** comprendida por todos los pacientes ambulatorios e internados afiliados y adherentes del IPSM y que residían en el Departamento Capital de Misiones, que cursaban cuadros clínicos compatibles con enfermedades respiratorias y se les solicitó en la consulta médica estudios de virus respiratorios.

**3.1.4 Definición de caso de ETI:** *Paciente de cualquier edad, con fiebre superior a 38°C, acompañado de tos o faringodinia, con hasta 72 hs de iniciado los síntomas.*

**3.1.5 Criterio de Inclusión:** Todo paciente que cumplió con la definición de caso de ETI.

El estudio se basó en la recolección de datos a partir de la ficha clínico-epidemiológica brindada por la Red Nacional de Influenza y Virus Respiratorios a través del Ministerio de Salud de la Provincia de Misiones (véase ANEXO I) y los resultados obtenidos con las pruebas de laboratorio para detección de virus respiratorios.

El estudio contó con la autorización del Director del Servicio de Laboratorio del IPSM y las autoridades del organismo brindaron apoyo al desarrollo de la investigación. El IPSM dispone de un convenio que permite la interacción entre dicho organismo y la FCEQyN de la UNaM para estudios de diagnóstico de virus respiratorios.

**3.1.6 Análisis de Variables:** Se estudiaron las siguientes variables:

a- Número de casos de ETI: los datos se expresaron en frecuencia absoluta según semana epidemiológica.

b- Características epidemiológicas: edad, sexo, antecedentes de vacunación, los datos se expresaron en frecuencia absoluta y relativa.

c- Origen de los de pacientes: Los pacientes residían en el Departamento Capital de Misiones y fueron clasificados en dos: ambulatorios e internados, los datos se expresaron en frecuencia absoluta y relativa.

d- Periodo entre el inicio de los síntomas y fecha de toma de muestra: se clasificaron en dos grupos según la toma de muestra se hubiera realizado en un periodo no mayor a 7 días y mayor a 8 días. Los datos se expresaron en frecuencia absoluta y relativa.

e- Agentes virológicos: VSR, ADV, PI 1, 2, 3, FLU A Y FLU B. Los datos se expresaron en frecuencia absoluta y relativa según periodo invernal estudiado y por grupos de edades.

f- Tipificación y subtipificación de virus Influenza A y B.

**3.1.7 Análisis Estadístico:** para la determinación de las medidas de frecuencia y asociación se utilizó el programa SPSS de IBM®, versión 21.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, EE.UU.).

La comparación de variables categóricas se realizó utilizando la Chi-cuadrado. Se calculó Odds Ratios con un intervalo de confianza del 95%. Los valores de  $p$  se consideraron significativos si eran menores de 0,05.

### **3.1.8 Consideraciones Éticas:**

El presente estudio se encuentra enmarcado en las actividades del Convenio que incluye servicios de asistencia y capacitación de la FCEQyN al IPSM. El tratamiento de las muestras clínicas de pacientes, la información de las fichas epidemiológicas se adecuó a lo preestablecido por el Sistema Nacional de Vigilancia. En cada actividad del estudio se resguardo la confidencialidad de la información de cada paciente. Por las características y objeto del estudio no se requirió consentimiento informado de los pacientes.

## 3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

**3.2.1 Muestras Clínicas:** se obtuvieron muestras de hisopados nasofaríngeos, hisopados nasales y faríngeos combinados de pacientes internados y ambulatorios. Se recibieron muestras de ANF de pacientes internados. Las muestras obtenidas en el laboratorio del IPSM, se mantuvieron a temperatura de 4°C y luego fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología Especializada de la FCEQyN donde fueron procesadas sistemáticamente cumpliendo con las normas de bioseguridad como lo establecen los organismos internacionales.

**3.2.2 Muestras Controles:** Para la evaluación de la técnica de IFI se utilizaron los controles positivos y negativos provistos por el kit comercial para FLU A, FLU B, VSR, ADV y PI.

Para la técnica de la RT-PCR se utilizó como control negativo, la misma mezcla de reacción a la que se agregó agua ultra pura, y como control positivo se procesaron muestras controles de FLU A H1N1, FLU A H3N2 y FLU B cedidas por el Servicio de Virus Respiratorio del INEI-ANLIS Carlos Malbrán.

**3.2.3 Métodos Diagnósticos:** inicialmente se realizó la determinación e identificación de los virus respiratorios a través de método cualitativo de IFI para la detección de antígenos virales de ADV, FLU A, FLU B, VSR y PI 1, 2 y 3, utilizando el kit comercial *Light Diagnostics™* siguiendo las instrucciones del fabricante (véase ANEXO II).

Se seleccionaron los casos positivos de FLU A y FLU B con el objetivo de confirmarlos por biología molecular. Además se investigó el gen de Hemaglutinina (HA) mediante RT-PCR convencional para subtipificar los virus FLU A. La extracción de ARN total se realizó utilizando el kit comercial *QIAmp® Viral ARN* (Qiagen) de acuerdo con las instrucciones suministradas por el fabricante (véase ANEXO III).

### **3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.3.1 AÑO 2015**

##### **3.3.1.1 Caracterización Clínico Epidemiológica de la Población estudiada**

Durante los meses de Abril a Noviembre del año 2015, que correspondió a las SE14 a SE48 se estudiaron 90 casos sospechosos de ETI en pacientes de todas las edades, con una mediana de edad de 12 años, en un rango de 1 mes a 77 años ( $X=24,2$  años;  $DS=23,7$ ). El 52,2% correspondía al sexo masculino.

Considerando el periodo de recuperación de virus respiratorios según el tiempo transcurrido entre el inicio de síntomas y la toma de muestra, se dividió a la población estudiada en dos grupos: pacientes con evolución menor o igual a 7 días y con más de 8 días. El primer grupo contuvo al 68,9% de los mismos.

Con respecto al estado inmune de los pacientes, se pudo constatar que el 15,6% había recibido la vacuna antigripal, el 43,3% no se había vacunado y en el 41,1% no se pudo recopilar este dato ya que no se contaba con dicha información en las correspondientes fichas clínico-epidemiológicas.

En la Tabla 1 puede verse un detalle de las variables estudiadas.

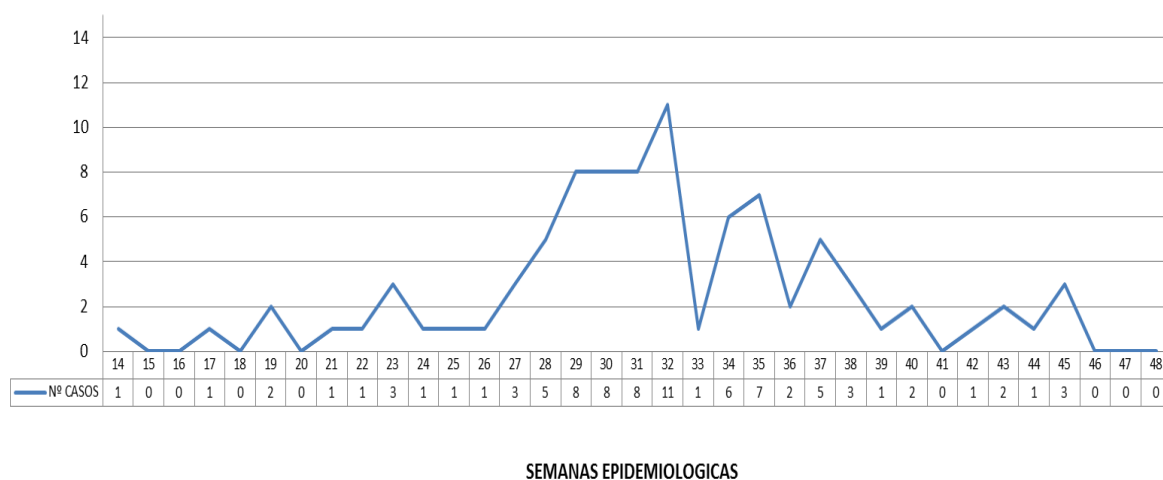


**Tabla Nº 1. Caracterización Clínica Epidemiológica de la Población. Análisis estadístico, año 2015**

			RESULTADOS*			ESTADIGRAFOS		
			+	-	Total	Chi <sup>2</sup>	p <sup>a</sup>	OR IC 95%
GRUPO ETARIO (años)	≤ 5	Recuento	18	13	31	15,959	0,001	—
		% dentro de Edad	58,10%	41,90%	100,00%			
		% dentro de Resultados	58,10%	22,00%	34,40%			
	6-18	% del total	20,00%	14,40%	34,40%			
		Recuento	7	10	17			
		% dentro de Edad	41,20%	58,80%	100,00%			
	19-64	% dentro de Resultados	22,60%	16,90%	18,90%			
		% del total	7,80%	11,10%	18,90%			
		Recuento	6	32	38			
	≥ 65	% dentro de Edad	15,80%	84,20%	100,00%			
		% dentro de Resultados	19,40%	54,20%	42,20%			
		% del total	6,70%	35,60%	42,20%			
SEXO	Masculino	Recuento	19	28	47	1,558	0,212	1,753 (0,723-4,248)
		% dentro de Sexo	40,40%	59,60%	100,00%			
		% dentro de Resultados	61,30%	47,50%	52,20%			
	Femenino	% del total	21,10%	31,10%	52,20%			
		Recuento	12	31	43			
		% dentro de Sexo	27,90%	72,10%	100,00%			
ORIGEN	Ambulatorio	% dentro de Resultados	38,70%	52,50%	47,80%			
		% del total	13,30%	34,40%	47,80%			
		Recuento	25	46	71			
	Internado	% dentro de Origen	35,20%	64,80%	100,00%			
		% dentro de Resultados	80,60%	78,00%	78,90%			
		% del total	27,80%	51,10%	78,90%			
TIEMPO (días)	≤ 7 días	Recuento	6	13	19	13,417	0	11,42 (2,49-52,35)
		% dentro de Origen	31,60%	68,40%	100,00%			
		% dentro de Resultados	19,40%	22,00%	21,10%			
	≥ 8 días	% del total	6,70%	14,40%	21,10%			
		Recuento	29	33	62			
		% dentro de Periodo	46,80%	53,20%	100,00%			
VACUNA	SI	% dentro de Resultados	93,50%	55,90%	68,90%			
		% del total	32,20%	36,70%	68,90%			
		Recuento	2	26	28			
	NO	% dentro de Periodo	7,10%	92,90%	100,00%			
		% dentro de Resultados	6,50%	44,10%	31,10%			
		% del total	2,20%	28,90%	31,10%			
COMORBILIDAD	SI	Recuento	3	11	14	0,547	0,46	0,595 (0,149-2,381)
		% dentro de Vacuna	21,40%	78,60%	100,00%			
		% dentro de Resultados	9,70%	18,60%	15,60%			
	NO	% del total	3,30%	12,20%	15,60%			
		Recuento	15	24	39			
		% dentro de Vacuna	38,50%	61,50%	100,00%			
SIN DATOS	% dentro de Resultados	48,40%	40,70%	43,30%				
	% del total	16,70%	26,70%	43,30%				
	Recuento	13	24	37				
Total	SI	% dentro de Vacuna	35,10%	64,90%	100,00%			
		% dentro de Resultados	41,90%	40,70%	41,10%			
		% del total	14,40%	26,70%	41,10%			
	NO	Recuento	3	9	12			
		% dentro de Como rbilidad	25,00%	75,00%	100,00%			
		% dentro de Resultados	9,70%	15,30%	13,30%			
SIN DATOS	% del total	3,30%	10,00%	13,30%				
	Recuento	28	50	78				
	% dentro de Como rbilidad	35,90%	64,10%	100,00%				
Total	% dentro de Resultados	90,30%	84,70%	86,70%				
	% del total	31,10%	55,60%	86,70%				
	Recuento	31	59	90				
Total	% dentro de Sexo	34,40%	65,60%	100,00%				
	% dentro de Resultados	100,00%	100,00%	100,00%				
	% del total	34,40%	65,60%	100,00%				

\*Resultados obtenidos mediante IFI. <sup>a</sup>Los valores de *p* se consideraron significativos si eran menores de 0,05.

El mayor número de casos de ETI estudiados por el laboratorio ocurrió hacia la SE32, según se muestra en la Figura 5.



**Figura Nº 5.** Distribución de casos de ETI estudiados por el laboratorio según Semana Epidemiológica. Año 2015

Según los resultados obtenidos por *Kusznierz y col* (2014) en el Departamento Capital de la Provincia de Santa Fe, durante el periodo 2005 a 2010; quienes analizaron los datos reportados por el sistema de Unidad Centinela, concluyeron que durante los años 2005, 2006 y 2009 el máximo indicador de casos notificados se alcanzó en la SE26, y en 2008 en la SE27. Sin embargo, en el año 2007 se alcanzó el máximo indicador en la SE23. Sin embargo, durante el 2010 el máximo indicador se registró hacia la SE33, situación similar a lo observado en este estudio en el año 2015.

Del total de muestras analizadas, se obtuvieron 31 casos positivos para alguno de los virus respiratorios estudiados por IFI, lo cual representa un índice de positividad del 34,4%; similar a lo publicado en el Boletín Epidemiológico del SIVILA (actualmente Sistema Integrado de Información Sanitaria - SISA), donde hasta la SE46 se había notificado un 30% de casos positivos y a su vez a lo ocurrido en la provincia de Salta, donde *Raskovsky y col* (2017) notificaron un porcentaje de positividad del 29,8% para un total de 2434 muestras analizadas hasta la SE51 del mismo año. Mientras que en el trabajo realizado durante los

años 2005 a 2010 por *Kusznierz y col* (2014), el porcentaje de positividad varió entre 4,2 y 64,7%.

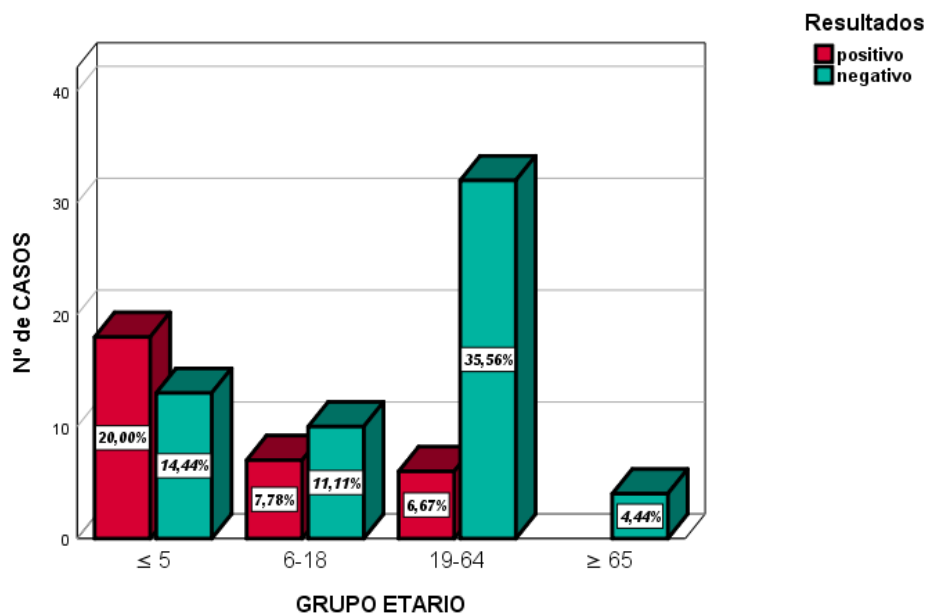
La distribución según sexo en los casos positivos fue: 61,3% del sexo masculino y 38,7% del sexo femenino. No se encontraron diferencias significativas según sexo ( $p=0,212$ ).

El 21,1% de las muestras provenían de pacientes que requirieron hospitalización, encontrándose 6 casos positivos para alguno de los virus respiratorios estudiados. En tanto, el 78,9% (71/90) correspondió a muestras de pacientes en tratamiento ambulatorio, con 25 casos positivos. No se encontró asociación según el origen de los pacientes y la presentación de la enfermedad diagnosticada por IFI ( $p=0,767$ ).

Situación muy diferente a lo publicado a través del Boletín Epidemiológico por el SIVILA, ya que del total de muestras estudiadas hasta la SE46 del mismo año, el 92% ( $n=55032$ ) correspondieron a pacientes que requirieron hospitalización, con 16895 resultados positivos y solo un 7% ( $n=4170$ ) a muestras de pacientes bajo tratamiento ambulatorio con 1320 hallazgos positivos. En el mismo trabajo de *Raskovsky y col* (2017) se observa que del total de muestras positivas, el 87% provenían de pacientes hospitalizados y el 13% de pacientes bajo tratamiento ambulatorio.

Del total de muestras, el 68,9% se tomaron durante los primeros 7 días desde el inicio de los síntomas, resultando 29 positivas; habiendo diferencias estadísticamente significativas según el momento de la toma de muestra ( $p<0,001$ ).

El mayor número de resultados positivos se dio en el grupo de menores de 5 años, representando el 20% ( $X=2$  años,  $DS=1,86$ ). Observándose diferencias estadísticamente significativas según la edad ( $p=0,01$ ) (Figura 6).



**Figura Nº 6.** Distribución de casos positivos y negativos por grupos etarios: IFI. Año 2015

Según los datos aportados por el SIVILA en el territorio argentino, durante el mismo periodo de tiempo, la mayoría de los casos estudiados correspondieron al grupo de menores de 2 años, con un 73% de resultados positivos (n=13408).

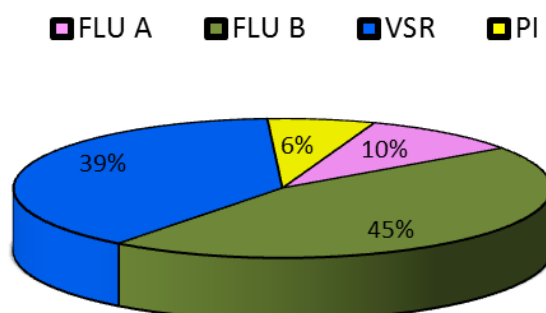
Al analizar el antecedente de vacunación antigripal, se observó que del total de positivos, 3,3% manifestaron haberse vacunado mientras que 16,7% no lo habían hecho según lo expresado en la Ficha Clínico Epidemiológica. En 14,4% casos no se pudo obtener este dato. No se encontró diferencias estadísticamente significativas según el antecedente de vacunación.

Respecto a la presencia de comorbilidades en los casos positivos, 2 presentaron bronquiolitis previa y 1 paciente tenía antecedentes de asma. No se encontró asociación entre la presencia de comorbilidad y la infección con virus respiratorios.

### 3.3.1.2 Caracterización de los Agentes Etiológicos

Al analizar los porcentajes de virus respiratorios identificados, los casos acumulados positivos hasta la SE48 en el año 2015 correspondieron con mayor

frecuencia (45% del total) a FLU B (14/31) seguido por el grupo de VSR 39% (12/31) y en menor proporción FLU A 10% (3/31) y PI 6% (2/31) (Figura 7).



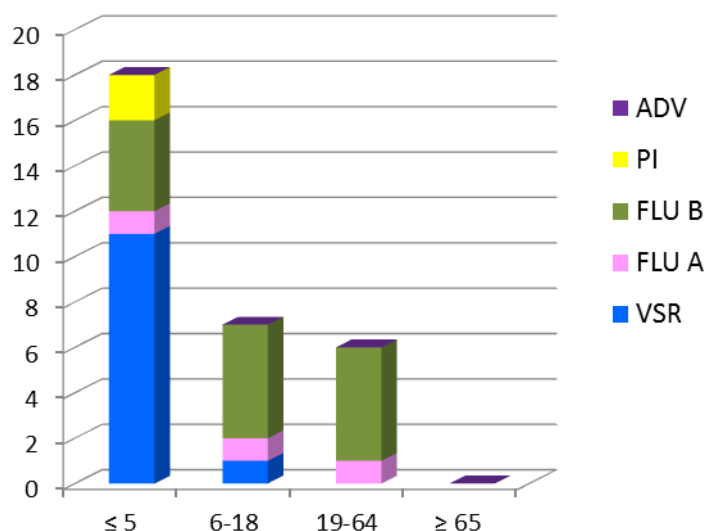
**Figura Nº 7.** Distribución porcentual de virus respiratorios. SE14 a 48, año 2015.

Según *Kusznierz y col* (2014), durante las siete estaciones que abarcó su estudio, hubo seis periodos de circulación de FLU A y un período de circulación de FLU B, mientras que en 2005 co-circularon FLU A y FLU B. Hacia el año 2010, aunque se registró una primera onda de circulación de virus FLU A y cuatro semanas más tarde, una segunda onda de circulación de FLU B, predominó este último.

Esta situación difiere de lo observado a través de los reportes epidemiológicos del SIVILA para el resto del país, donde hasta la SE47 el 72,16% de los casos correspondieron a VSR (n=13144) seguido por el grupo FLU que constituyó el 12,09% de los positivos identificados (n=2203), 10,75% FLU A y 1,34% FLU B; y 8,55% PI (n=1558). En la provincia de Salta, hasta la SE51, la vigilancia realizada por *Raskovsky y col* (2017) notificó que el 74% de los casos positivos se debían a VSR, seguido por FLU A 9%, PI 8%, FLU B 6% y AVD un 3%.

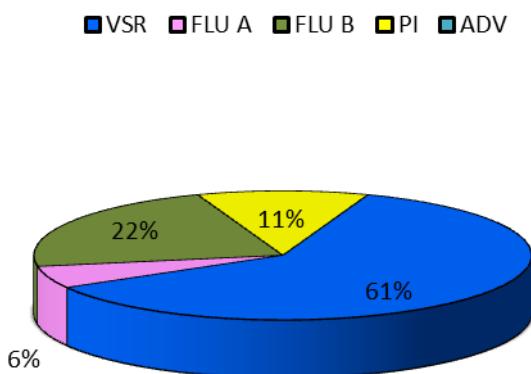
Esto podría deberse a la localización geográfica del Departamento Capital y el intenso flujo de personas con países limítrofes y la probable circulación del virus en etapas estacionales diferentes al resto del país así como también podría influir el tamaño de la muestra.

Cuando analizamos los casos positivos por grupos etarios, vemos que la mayoría de los mismos se presentó en el grupo de menores de 5 años, con 18 casos positivos (20%) (Figura 8).



**Figura N° 8.** Distribución de casos positivos de virus respiratorios por grupos de edad. SE14 a 48, año 2015.

En este grupo mayoritario, el 61% correspondió a VSR, 22% FLU B, 11% PI y 6% FLU A, tal como puede observarse en la Figura 9.



**Figura N° 9.** Distribución proporcional virus respiratorios en los casos positivos, población menor de 5 años.

Cabe aclarar que los datos volcados al SIVILA provienen de laboratorios que integran la Red de Laboratorios de Virus Respiratorios. La Red establece que la

población recomendada para estos estudios incluye los menores de 2 años y los mayores a 65. A esto podría deberse los resultados disimiles que obtuvimos al comparar con el resto del país.

### 3.3.1.3 Caracterización Molecular de los Virus Influenza

Las muestras cuyo resultado por IFI habían sido positivas para el grupo de virus FLU, fueron almacenadas a -20°C para su posterior análisis por RT-PCR. Se investigó el gen de Hemaglutinina (HA) mediante RT-PCR convencional para subtipificar los virus FLU A. También se investigó por esta metodología las muestras positivas para FLU B.

Según los datos obtenidos en este estudio, el 55% de las muestras positivas correspondió al grupo de virus FLU. Se logró amplificar la HA de los virus FLU en proporciones similares para ambas cepas, FLU A H3N2 y FLU A H1N1.

De las muestras previamente tipificadas como FLU B por IFI, se logró la amplificación solo en una de ellas, esto podría atribuirse a una carga viral baja debido al procedimiento de toma de muestra, o bien a la conservación de la misma<sup>78</sup>, ya que se mantuvieron a -20 °C durante más de un año.

Según los datos del SIVILA, hasta la SE46 del 2015, la mayoría de los casos de FLU A correspondieron a la cepa estacional FLU A H3N2 (45%), y en menor proporción a FLU A no subtipificado (35%) y FLU B (11%, identificándose entre ellos linaje Yamagata y Victoria); y en menor número a FLU A H1N1 (9%).

La epidemiología de la gripe durante el año 2015 varió con respecto al momento de aparición y con los diferentes tipos de virus circulantes en los distintos países de América<sup>80</sup>.

En América del sur, debido a su clima templado, la temporada de influenza fue relativamente suave y comenzó temprano a mediados de junio con un pico de actividad entre mediados y fines de agosto, siendo el subtipo FLU A (H3N2) el predominante. La excepción fue Chile que experimentó actividad máxima hacia fines de agosto y septiembre, tendencias similares a las de los 2 años anteriores, y donde predominaron los virus de influenza A (H1N1) pdm09<sup>80</sup>.

En la mayoría de los países tropicales y subtropicales de Centro y Sudamérica, la circulación de influenza fue similar o inferior a la de 2014, predominando FLU A (H3N2). Las excepciones fueron Cuba, que experimentó una temporada prolongada con predominio de FLU A (H1N1) pdm09, República Dominicana con FLU A (H1N1) pdm09 y Bolivia con predominio de FLU B<sup>80</sup>.

### **3.3.2 AÑO 2016**

#### **3.3.2.1 Caracterización Clínico Epidemiológica de la Población estudiada**

Durante los meses de Abril a Noviembre del año 2016, coincidente con las SE14 a 48, el número de casos sospechosos de ETI de todas las edades estudiados fue de 528, con una mediana de 38 años y un rango de 1 mes a 83 años (X=36 años DS=22,7).

El 38,8% correspondía al sexo masculino y el 61,2% al sexo femenino. El 86,4% de los pacientes eran ambulatorios y el 13,6% internados.

Según el periodo comprendido entre la aparición de los síntomas y la toma de muestra, de los dos grupos estudiados, el 76,7% de los pacientes pertenecía al de evolución menor o igual a 7 días.

Evaluando los antecedentes del estado inmune de los pacientes, se pudo constatar que el 9,1% había recibido la vacuna antigripal, el 77,3% no se había vacunado y en el 13,6% no se pudo recopilar este dato.

En la Tabla 2 puede verse el análisis de las variables.



**Tabla N°2.** Caracterización Clínica Epidemiológica de la Población. Análisis estadístico, año 2016

		RESULTADOS*			Total	ESTADIGRAFOS		
		+	-			Chi²	p <sup>a</sup>	OR IC 95%
GRUPO ETARIO (años)	≤ 5	Recuento	5	85	90	0,13	0,988	—
		% dentro de Edad	5,60%	94,40%	100,00%			
		% dentro de Resultados	15,20%	17,20%	17,00%			
	% del total	0,90%	16,10%	17,00%				
	6-18	Recuento	5	71	76			
		% dentro de Edad	6,60%	93,40%	100,00%			
		% dentro de Resultados	15,20%	14,30%	14,40%			
	% del total	0,90%	13,40%	14,40%				
	19-64	Recuento	20	290	310			
		% dentro de Edad	6,50%	93,50%	100,00%			
		% dentro de Resultados	60,60%	58,60%	58,70%			
	% del total	3,80%	54,90%	58,70%				
≥ 65	Recuento	3	49	52				
	% dentro de Edad	5,80%	94,20%	100,00%				
	% dentro de Resultados	9,10%	9,90%	9,80%				
% del total	0,60%	9,30%	9,80%					
SEXO	Masculino	Recuento	14	191	205	0,192	0,661	1,173 (0,574-2,394)
		% dentro de Sexo	6,80%	93,20%	100,00%			
		% dentro de Resultados	42,40%	38,60%	38,80%			
	% del total	2,70%	36,20%	38,80%				
	Femenino	Recuento	19	304	323			
		% dentro de Sexo	5,90%	94,10%	100,00%			
% dentro de Resultados		57,60%	61,40%	61,20%				
% del total	3,60%	57,60%	61,20%					
ORIGEN	Ambulatorio	Recuento	28	428	456	0,069	0,793	0,877 (0,327-2,349)
		% dentro de Origen	6,10%	93,90%	100,00%			
		% dentro de Resultados	84,80%	86,50%	86,40%			
	% del total	5,30%	81,10%	86,40%				
	Internado	Recuento	5	67	72			
		% dentro de Origen	6,90%	93,10%	100,00%			
% dentro de Resultados		15,20%	13,50%	13,60%				
% del total	0,90%	12,70%	13,60%					
TIEMPO (días)	≤ 7 días	Recuento	21	384	405	3,364	0,067	0,506 (0,241-1,060)
		% dentro de Periodo	5,20%	94,80%	100,00%			
		% dentro de Resultados	63,60%	77,60%	76,70%			
	% del total	4,00%	72,70%	76,70%				
	≥ 8 días	Recuento	12	111	123			
		% dentro de Periodo	9,80%	90,20%	100,00%			
% dentro de Resultados		36,40%	22,40%	23,30%				
% del total	2,30%	21,00%	23,30%					
VACUNA	SI	Recuento	2	46	48	0,899	0,638	—
		% dentro de Vacuna	4,20%	95,80%	100,00%			
		% dentro de Resultados	6,10%	9,30%	9,10%			
	% del total	0,40%	8,70%	9,10%				
	NO	Recuento	25	383	408			
		% dentro de Vacuna	6,10%	93,90%	100,00%			
		% dentro de Resultados	75,80%	77,40%	77,30%			
	% del total	4,70%	72,50%	77,30%				
	SIN DATOS	Recuento	6	66	72			
% dentro de Vacuna		8,30%	91,70%	100,00%				
% dentro de Resultados		18,20%	13,30%	13,60%				
% del total	1,10%	12,50%	13,60%					
COMORBILIDAD	SI	Recuento	6	129	135	1,009	0,315	0,630 (0,255-1,562)
		% dentro de Comorbilidad	4,40%	95,60%	100,00%			
		% dentro de Resultados	18,20%	26,10%	25,60%			
	% del total	1,10%	24,40%	25,60%				
	NO	Recuento	27	366	393			
		% dentro de Comorbilidad	6,90%	93,10%	100,00%			
% dentro de Resultados		81,80%	73,90%	74,40%				
% del total	5,10%	69,30%	74,40%					
Total	Recuento	33	495	528				
	% dentro de Sexo	6,30%	93,80%	100,00%				
	% dentro de Resultados	100,00%	100,00%	100,00%				
	% del total	6,30%	93,80%	100,00%				

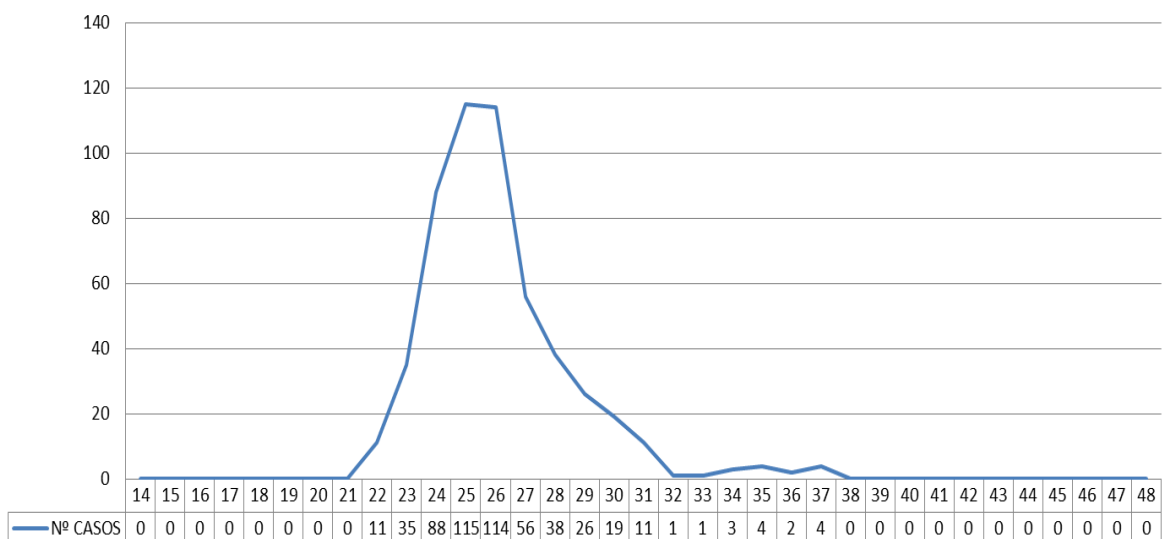
\*Resultados obtenidos mediante IFI. <sup>a</sup>Los valores de *p* se consideraron significativos si eran menores de 0,05.

Del total de muestras analizadas, se obtuvieron 33 casos positivos por IFI (6,3%), muy inferior a lo ocurrido en el resto del país, ya que según la vigilancia de virus respiratorios hasta la SE37 de 2016 fueron estudiados para virus respiratorios y notificados 66.611 casos con 25.660 casos positivos, lo que representa un porcentaje de positividad del 38,52%, considerando pacientes ambulatorios e internados, con un pico de casos estudiados entre la SE22 y SE23.

Como se observa en la Figura 10, la mayor cantidad de casos estudiados se presentó en las SE25 y SE26, con anterioridad a lo ocurrido en el año 2015, para luego descender de manera paulatina como ocurrió en el resto del país, similar a lo publicado por *Kusznierz y col* (2014).

*Raskovsky y col* (año 2017) hasta la SE51 del mismo año encontraron un porcentaje de positividad del 44%, para un total de 3267 muestras estudiadas.

La diferencia observada podría deberse al breve periodo de bajas temperaturas ocurridas durante la temporada invernal y el amplio rango etario incluido en este estudio.



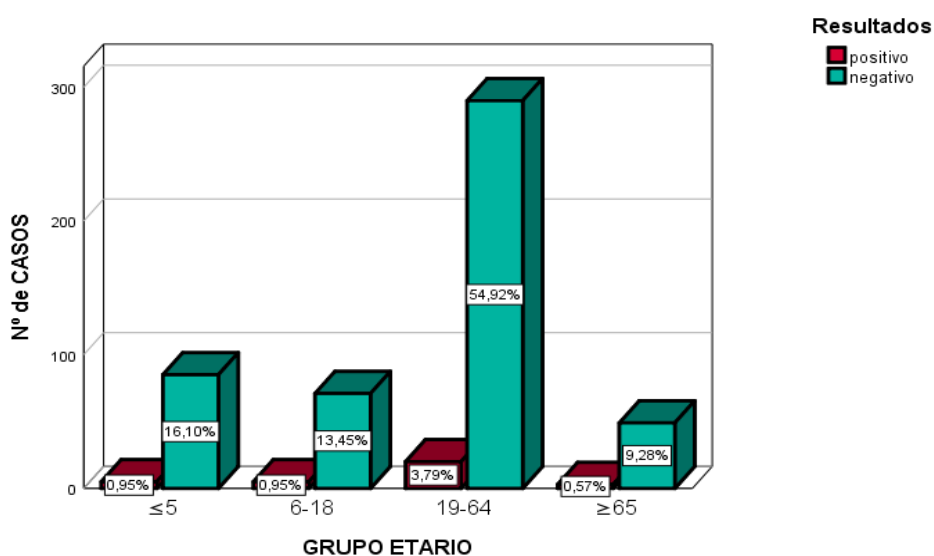
**Figura Nº 10.** Distribución de casos de ETI estudiados por el laboratorio según Semana Epidemiológica. Año 2016

Como puede verse en la Tabla 2, la distribución según sexo en los casos positivos fue: 2,7% del sexo masculino y 3,6% del sexo femenino. No encontrándose diferencias significativas según sexo ( $p=0,661$ ).

Del total de muestras estudiadas, el 13,6% correspondieron a pacientes que requirieron hospitalización, encontrándose 5 casos positivos para alguno de los virus respiratorios estudiados. En tanto, el 86,4% correspondió a muestras de pacientes bajo tratamiento ambulatorio, con 28 casos positivos; no se hallaron diferencias estadísticamente significativas según el origen de los pacientes ( $p=0,793$ ). *Raskovsky y col* (2017) notificaron que el 75% de las muestras provenían de pacientes hospitalizados y el 25% restante bajo tratamiento ambulatorio.

Del total de las muestras, 76,7% se tomaron durante los primeros 7 días desde el inicio de los síntomas, resultando 21 positivas, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas según el tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la toma de muestra ( $p=0,067$ ).

La mayoría de los casos positivos se presentaron en el grupo edades entre 19 y 64 ( $X=44$  años,  $DS=12$ ), con un porcentaje de positividad del 3,8% (20/33) (Figura 11).



**Figura Nº 11.** Distribución de casos positivos y negativos por grupos etarios: IFI. Año 2016

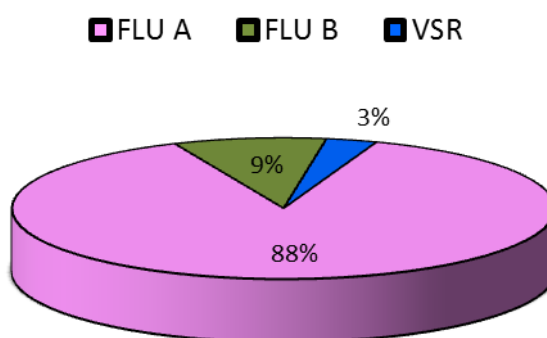
Según los datos aportados por el SIVILA, durante el mismo periodo de tiempo, en el grupo de 15 a 64 años el 41% (n=3100) de las muestras resultaron positivas para alguno de los virus estudiados, sin embargo al igual que en el año anterior, la mayoría de los casos positivos correspondieron al grupo de menores de 2 años, con un porcentaje de positividad del 44% (n=16281).

Al analizar el antecedente de vacunación antigripal, se observó que del total de positivos, 0,4% manifestaron haberse vacunado mientras que el 4,7% no lo hicieron; y en un 1,1% no se contó con este dato. No se encontró asociación entre el estado inmune de los pacientes y la presencia de enfermedad ( $p=0,638$ ).

Respecto a la presencia de comorbilidades en los casos positivos, 6 presentaron alguna comorbilidad, principalmente enfermedades respiratorias crónicas como EPOC, asma y bronquiolitis previas, no se encontró asociación entre la presencia de comorbilidad y la presentación de la enfermedad.

### 3.2.2.2 Caracterización de los Agentes Etiológicos

En la población estudiada la mayoría de los casos se debió a FLU A 88% (29/33), seguido por FLU B 9% (3/33) y VSR 3% (1/33) (Figura 12).

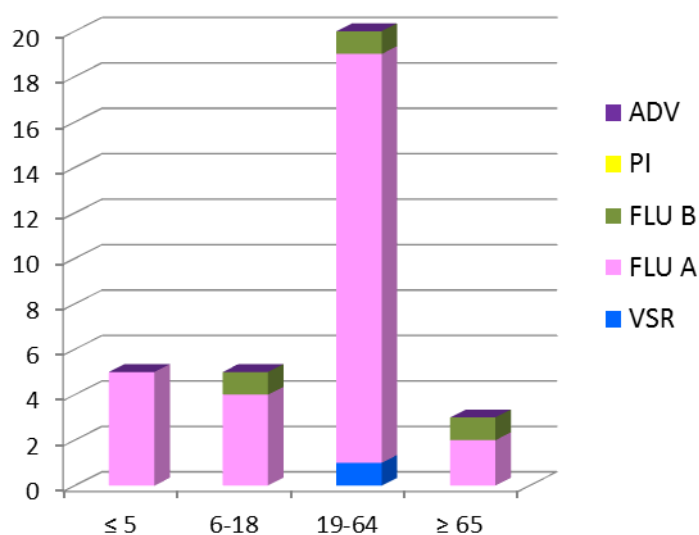


**Figura Nº 12.** Distribución porcentual de virus respiratorios identificados. SE14 a 48, año 2016.

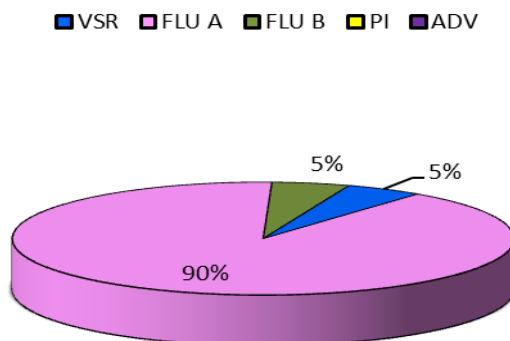
Según los reportes del sistema de vigilancia, el 65,62% de los casos correspondieron a VSR como es habitual debido a la población analizada, seguido por el grupo de FLU A que representó el 23,1%, PI 4,57%, FLU B 2,16% y ADV 1,86% de los casos. Datos similares al nuestro se reportaron en la provincia de

Corrientes desde el Laboratorio Central, donde *Andino y col.* (2017) informaron una circulación mayoritaria de FLU A y B seguida de VSR en un total de 1672 muestras hasta la SE39<sup>77</sup>. En la provincia de Salta, hasta la SE51, la vigilancia realizada por *Raskovsky y col* (2017) notificó que el 54% de los casos positivos se debían a VSR, seguido por FLU A 32%, PI 7%, FLU B 6% y ADV 1%.

Al analizar los casos positivos por grupos de edad, la mayoría se presentó en el grupo de 19 a 64 años ( $X=44$  años,  $DS=12$ ), correspondiendo el 90% a FLU A, seguido de FLU B y VSR en iguales proporciones, no encontrándose casos debidos a ADV o PI (Figura 13 y 14).



**Figura N°13.** Distribución de casos positivos de virus respiratorios por grupos de edad. SE14 a 48, año 2016.



**Figura N°14.** Distribución proporcional de virus respiratorios en los casos positivos, población de 19 a 64 años.

Como se mencionó anteriormente, según los datos reportados por el SIVILA, en el grupo de menores de 2 años, que representó el grupo donde mayores casos se presentaron, el 80,8% de los casos positivos correspondió a VSR (n= 13161); y en el grupo de 15 a 64 años, el SIVILA reportó un 86,84% de FLU A, 6,32% de FLU B, 4,77 de VSR, 0,97% de PI y 0,42% de ADV, similar a lo observado en el presente estudio.

### **3.3.2.3 Caracterización Molecular de los Virus Influenza**

En el año 2016, el 97% de los casos positivos correspondió al grupo de virus FLU.

Se logró amplificar la HA de los virus FLU A siendo el predominante el subtipo AH1N1 pdm09 (46,15%) y en menor proporción AH3N2 (15,38%); en el resto de las muestras no se logró la subtipificación.

Esto coincide con lo reportado por el SIVILA, donde las caracterizaciones genómicas obtenidas hasta la SE 37, indicaron que las cepas de FLU A circulantes correspondieron en su mayoría al subtipo AH1N1 y una menor proporción a AH3N2.

No se logró la amplificación de las muestras previamente identificadas como FLU B por IFI.

El laboratorio de Referencia Nacional, ANLIS, Dr. Carlos Malbrán, caracterizó molecularmente las cepas de FLU A y la mayoría de las FLU B, y reportaron que se encontraban relacionadas con las cepas incluidas en la fórmula de la vacuna antigripal aplicada en 2016 en nuestro país, cuyos componentes eran: A/California/7/2009(H1N1) pdm09, A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) y B/Brisbane/60/2008.

La mayoría de los países de América experimentaron una actividad similar de virus FLU durante los períodos normalmente descritos, excepto Chile y Paraguay donde la actividad fue posterior a lo que se informaba regularmente. En Argentina y Uruguay la circulación de estos virus se registró en semanas epidemiológicas

más tempranas. De Octubre de 2015 a Julio de 2016 predominaron los virus FLU A (H1N1) pdm09 y de Julio en adelante, el predominio se debió a FLU A (H3N2)<sup>81</sup>.

### **3.3.3 AÑO 2017**

#### **3.3.3.1 Caracterización Clínico Epidemiológica de la Población estudiada**

En el año 2017, desde Abril a Noviembre, correspondientes a las SE14 a 48 del Calendario Epidemiológico, se estudiaron 369 casos sospechosos de ETI en pacientes de todas las edades, con una mediana de 37 años en un rango del 1 mes a 92 años ( $X=37$  años,  $DS=22,9$ ).

El 41,2% correspondía al sexo masculino y el 58,8% al sexo femenino. El 75,6% de los pacientes eran ambulatorios y el 24,4% estaban internados en distintos sanatorios de la ciudad de Posadas.

Según el periodo de recuperación de virus respiratorios de acuerdo al tiempo transcurrido entre el inicio de síntomas y la toma de muestra, el 81,6% de los pacientes se encontró en el grupo de evolución menor o igual a 7 días.

Al analizar al estado inmune de los pacientes de acuerdo al antecedente de vacunación antigripal, se pudo constatar que el 7% había recibido la vacuna, el 77,8% no se había vacunado y en el 15,2% no se pudo recopilar este dato.

En la Tabla 3 puede verse el análisis de las variables estudiadas en el periodo invernal 2017.

**Tabla Nº 3. Caracterización Clínica Epidemiológica de la Población. Análisis estadístico, año 2017**

			RESULTADOS*			ESTADIGRAFOS		
			+	-	Total	Chi <sup>2</sup>	p <sup>a</sup>	OR IC 95%
GRUPO ETARIO (años)	≤ 5	Recuento	2	35	37	1,672	0,643	—
		% dentro de Edad	5,40%	94,60%	100,00%			
		% dentro de Resultados	22,20%	9,70%	10,00%			
	% del total	0,50%	9,50%	10,00%				
	6-18	Recuento	1	67	68			
		% dentro de Edad	1,50%	98,50%	100,00%			
		% dentro de Resultados	11,10%	18,60%	18,40%			
	% del total	0,30%	18,20%	18,40%				
	19-64	Recuento	5	212	217			
		% dentro de Edad	2,30%	97,70%	100,00%			
		% dentro de Resultados	55,60%	58,90%	58,80%			
	% del total	1,40%	57,50%	58,80%				
≥ 65	Recuento	1	46	47				
	% dentro de Edad	2,10%	97,90%	100,00%				
	% dentro de Resultados	11,10%	12,80%	12,70%				
% del total	0,30%	12,50%	12,70%					
SEXO	Masculino	Recuento	4	148	152	0,04	0,841	1,146 (0,303-4,339)
		% dentro de Sexo	2,60%	97,40%	100,00%			
		% dentro de Resultados	44,40%	41,10%	41,20%			
	% del total	1,10%	40,10%	41,20%				
	Femenino	Recuento	5	212	217			
		% dentro de Sexo	2,30%	97,70%	100,00%			
% dentro de Resultados		55,60%	58,90%	58,80%				
% del total	1,40%	57,50%	58,80%					
ORIGEN	Ambulatorio	Recuento	7	272	279	0,024	0,878	1,132 (0,231-5,551)
		% dentro de Origen	2,50%	97,50%	100,00%			
		% dentro de Resultados	77,80%	75,60%	75,60%			
	% del total	1,90%	73,70%	75,60%				
	Internado	Recuento	2	88	90			
		% dentro de Origen	2,20%	97,80%	100,00%			
% dentro de Resultados		22,20%	24,40%	24,40%				
% del total	0,50%	23,80%	24,40%					
TIEMPO (días)	≤ 7 días	Recuento	8	293	301	0,329	0,567	1,829 (0,225-14,875)
		% dentro de Periodo	2,70%	97,30%	100,00%			
		% dentro de Resultados	88,90%	81,40%	81,60%			
	% del total	2,20%	79,40%	81,60%				
	≥ 8 días	Recuento	1	67	68			
		% dentro de Periodo	1,50%	98,50%	100,00%			
% dentro de Resultados		11,10%	18,60%	18,40%				
% del total	0,30%	18,20%	18,40%					
VACUNA	SI	Recuento	0	26	26	0,897	0,639	—
		% dentro de Vacuna	0,00%	100,00%	100,00%			
		% dentro de Resultados	0,00%	7,20%	7,00%			
	% del total	0,00%	7,00%	7,00%				
	NO	Recuento	8	279	287			
		% dentro de Vacuna	2,80%	97,20%	100,00%			
		% dentro de Resultados	88,90%	77,50%	77,80%			
	% del total	2,20%	75,60%	77,80%				
	SIN DATOS	Recuento	1	55	56			
% dentro de Vacuna		1,80%	98,20%	100,00%				
% dentro de Resultados		11,10%	15,30%	15,20%				
% del total	0,30%	14,90%	15,20%					
COMORBILIDAD	SI	Recuento	2	63	65	0,135	0,713	1,347 (0,273-6,637)
		% dentro de Comorbilidad	3,10%	96,90%	100,00%			
		% dentro de Resultados	22,20%	17,50%	17,60%			
	% del total	0,50%	17,10%	17,60%				
	NO	Recuento	7	297	304			
		% dentro de Comorbilidad	2,30%	97,70%	100,00%			
% dentro de Resultados		77,80%	82,50%	82,40%				
% del total	1,90%	80,50%	82,40%					
Total	Recuento	9	360	369				
	% dentro de Sexo	2,40%	97,60%	100,00%				
	% dentro de Resultados	100,00%	100,00%	100,00%				
	% del total	2,40%	97,60%	100,00%				

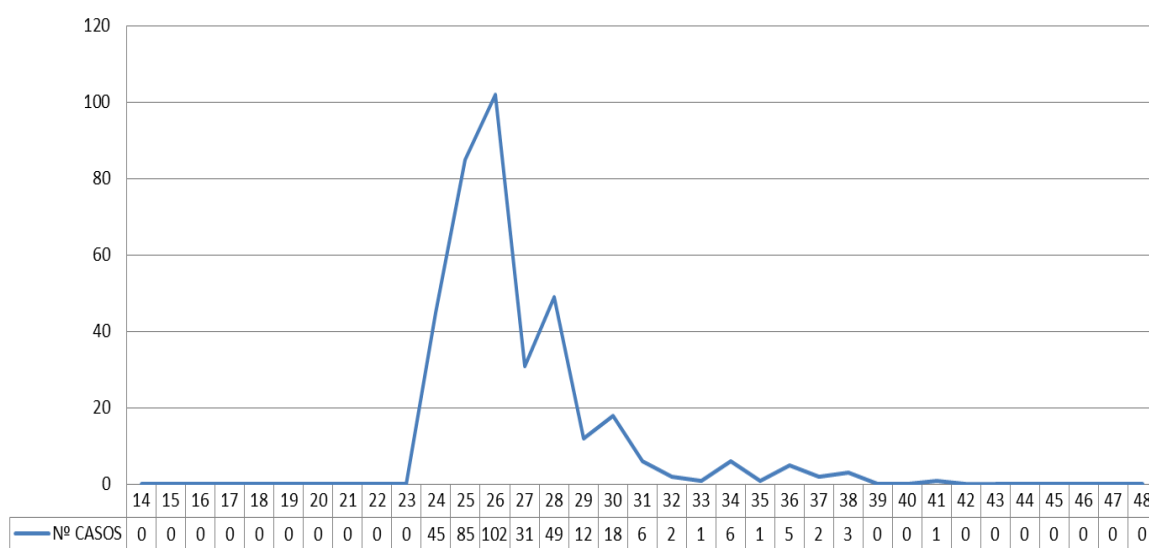


\*Resultados obtenidos mediante IFI. <sup>a</sup>Los valores de *p* se consideraron significativos si eran menores de 0,05.

En este periodo de estudio se obtuvo un porcentaje de positividad del 2,4%, muy distinto a lo ocurrido en el resto del país, ya que hasta la SE40 de 2017 fueron estudiados para virus respiratorios y notificados a través de la red de vigilancia un 40,8% (n=28473) de casos positivos, considerando pacientes ambulatorios e internados.

Al igual que en año anterior, la diferencia observada respecto a lo notificado por los sistemas de vigilancia a nivel país, podría deberse al breve periodo invernal ocurrido durante este año en la provincia de Misiones.

La mayor cantidad de casos se estudiaron entre la SE25 y SE26 coincidente con el pico de notificaciones nacionales que tuvo lugar en las SE24 y SE25, posteriormente se produjo un marcado descenso de casos según puede observarse en la Figura 15.



Epidemiológica. Año 2017

La distribución según sexo en los casos positivos fue: 1,1% del sexo masculino y 1,4% del sexo femenino, no se encontró asociación según sexo ( $p=0,841$ ).

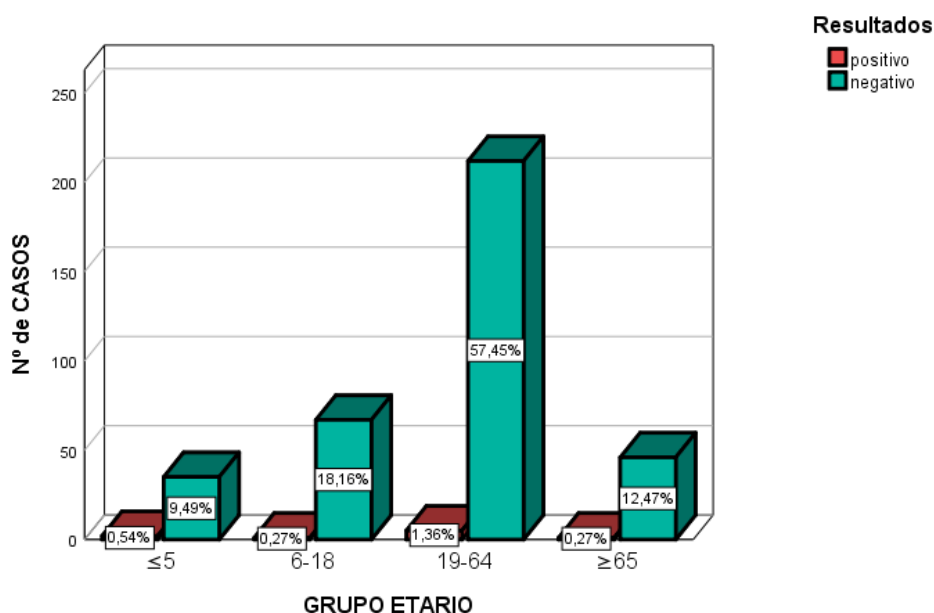
El 25% de las muestras provenían de pacientes internados, encontrándose 2 casos positivos. En tanto, el 75% correspondió a muestras de pacientes

ambulatorios, con 7 casos positivos; no se encontró diferencias significativas según el origen de los pacientes ( $p=0,878$ ).

Se observó que esta situación fue diferente a lo publicado a través del SIVILA, ya que del total de muestras estudiadas durante el mismo tiempo, el 89% ( $n=62240$ ) correspondieron a pacientes que requirieron hospitalización, con 26209 resultados positivos y un 11% ( $n=5517$ ) a muestras de pacientes bajo tratamiento ambulatorio con 2264 casos positivos.

Del total de muestras analizadas, 81,6% se habían obtenido durante los primeros 7 días desde el inicio de los síntomas, resultando 8 positivas; no se encontraron diferencias estadísticamente significativas según el tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la toma de muestra ( $p=0,567$ ).

La mayoría de los casos positivos en este estudio se presentaron en el grupo de 19 a 64 años ( $X=42$  años,  $DS=12,3$ ), con un porcentaje de positividad del 1,36% (Figura 16). No se encontró asociación según la edad ( $p=0,643$ ).



**Figura Nº 16.** Distribución de casos positivos y negativos por grupos etarios: IFI. Año 2017

Según los datos aportados por el SIVILA, durante el mismo periodo de tiempo, la mayoría de los casos estudiados correspondieron al grupo de menores de 2 años, con un 48,8% de resultados positivos ( $n= 18690$ ), seguido del grupo de

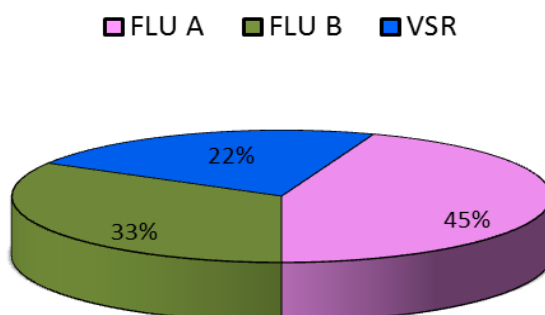
mayores de 65 con 47,5% y para el grupo de 15 a 64 años, un 40,9% de positividad.

Respecto al antecedente de vacunación antigripal, se observó que del total de positivos, 2,2% manifestaron no haberse vacunado y en 0,3% no se pudo recopilar dicha información. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas según el estado inmune de los pacientes ( $p=0,639$ ).

En cuanto a la presencia de comorbilidades, en los casos positivos solo 2 presentaron antecedentes de enfermedades respiratorias crónicas, como bronquiolitis. No se encontró asociación entre la presencia de comorbilidad y la enfermedad ( $p=0,713$ ).

### 3.3.3.2 Caracterización de los Agentes Etiológicos

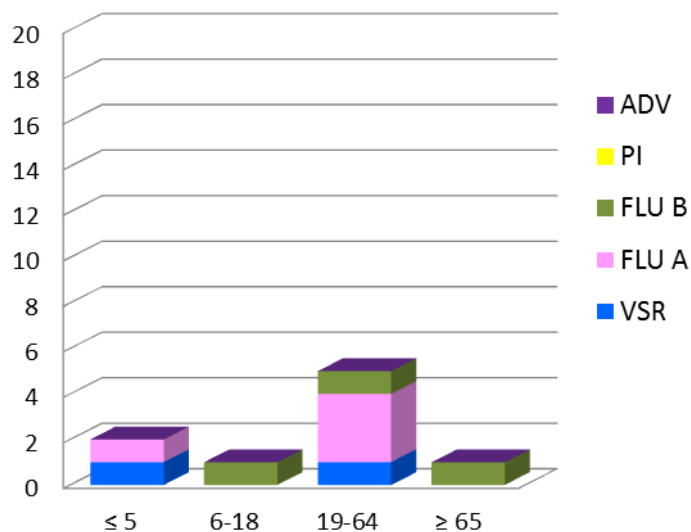
En este periodo se obtuvo una reducción en el número de casos positivos, representando como se vio anteriormente el 2% del total de muestras estudiadas. La distribución de los casos positivos fue: FLU A 45% (4/9), FLU B 33% (3/9) y VSR 22% (2/9), como puede observarse en la Figura 17.



**Figura N°17.** Distribución porcentual de virus respiratorios identificados. SE14 a 48, año 2017.

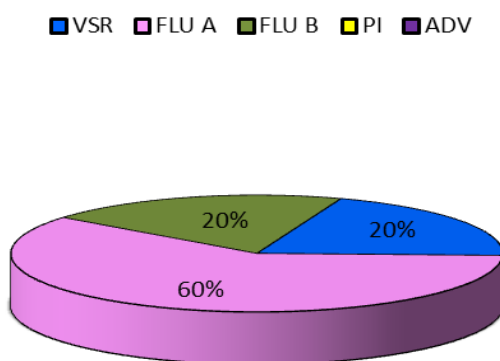
Nuestros datos difieren a los aportados por el SIVILA, ya que hasta la SE40 del 2017 el 63,7% correspondió a VSR, 18,4% FLU A, 6,6% PI, 4,1 %ADV y 3,2% FLUB.

La distribución de virus respiratorios por grupos de edades puede observarse en la Figura 18. Al igual que en año 2016 la mayor cantidad de casos positivos se dio en el grupo de 19 a 64 años.



**Figura N°18.** Distribución de casos positivos de virus respiratorios por grupos de edad. SE14 a 48, año 2017.

Al analizar la distribución de los casos de virus respiratorios en el grupo mayoritario, se ve que el 60% correspondió a FLU A, seguido de FLU B y VSR en iguales proporciones, como se observa en la Figura 19.



**Figura N°19.** Distribución proporcional de virus respiratorios en los casos positivos, población de 19 a 64 años.

Según los datos aportados por el SIVILA, en el caso del grupo de 15 a 64 años predominaron los casos positivos para FLU en el 83,3%, 6,3% VSR, 4,2% ADV y 1,5% PI, si bien no diferencia entre FLU A y FLU B.

### 3.3.3.3 Caracterización Molecular de los Virus Influenza

En el año 2017, del total de las muestras positivas, el 78% correspondió al grupo FLU.

Se logró amplificar la HA de los virus FLU que correspondieron 2 a FLU A (H1N1) pdm09 y 2 a FLU A (H3N2). Para el mismo periodo, según los datos aportados por el SIVILA, el 99,8% de los casos subtipificados de FLU A correspondieron al subtipo A (H3N2) y sólo se notificaron 4 casos de subtipo A (H1N1) pdm09. Claramente, las proporciones de FLU A difieren de lo informado a nivel nación, pero esto puede deberse al bajo número de casos positivos obtenidos en nuestro estudio (2%).

Se logró amplificar al virus FLU B en el 33% de los casos.

Durante el 2017, la actividad de los virus FLU varió para los países del Cono Sur. Argentina y Uruguay experimentaron circulación de virus FLU de forma más temprana respecto a temporadas de años anteriores y similares a la temporada 2016, con detecciones de virus FLU en aumento desde mediados de Marzo hasta mediados de Mayo. Chile y Paraguay experimentaron temporadas tardías comparadas con otros años, comenzando las detecciones de virus FLU a finales de Abril. La actividad en Chile alcanzó su punto máximo a principios de Junio y en Paraguay a fines de Mayo. Durante todo Octubre, estos países continuaron reportando detecciones de virus FLU, con predominio de FLU A (H3N2), aunque se observó co-circulación de virus FLU B a lo largo de la temporada<sup>82</sup>.

La circulación de virus FLU siguió las tendencias históricas en la mayoría de las regiones del mundo, excepto en Europa y Asia oriental, donde las temporadas comenzaron y alcanzaron su punto máximo antes de lo habitual. La actividad de FLU de Octubre 2016 a Octubre 2017 se caracterizó por el predominio casi

completo de detección de virus FLU A (H3N2), con unas pocas excepciones donde se detectó FLU A (H1N1) pdm09 en mayor proporción<sup>82</sup>.

El amplio rango etario incluido en el presente también podría incidir en la diferencia observada respecto a lo informado por el resto de las provincias. Llama la atención que durante el año 2015 se detectaron muchos pacientes infectados con FLU B, cosa que no ocurría a nivel país. Es muy probable que esto se deba al estudio de diferentes poblaciones y sobre todo al amplio rango etario. Si bien es cierto que en las temporadas siguientes, se registró un aumento de casos debidos a FLU B en varias regiones del país.

La circulación de virus FLU fue diferente en todas las temporadas, en este estudio durante el 2015 predominó FLU B, en 2016 FLU A (H1N1) pdm09, y en el 2017 FLU A, aunque no pude detectarse la cepa predominante debido al bajo número de casos identificados.

### 3.4 CONCLUSIONES

Este estudio permitió identificar los virus respiratorios circulantes durante la temporada invernal 2015-2017 en la población que asistió al laboratorio del IPSM de la ciudad de Posadas con diagnóstico de ETI mediante las técnicas de IFI y biología molecular y sus principales características clínicas asociadas.

En los 3 años se procesaron 987 muestras respiratorias en pacientes mayoritariamente de origen ambulatorio, en edades comprendidas entre 1 mes y 92 años. Solo el 8% manifestó antecedente de vacunación en los meses previos, y el 21% presentaba alguna comorbilidad asociada a enfermedades respiratorias crónicas.

Los casos sospechosos de ETI se estudiaron en el periodo comprendido entre las SE14 y SE48 del calendario epidemiológico de las tres temporadas, registrándose el mayor número de casos en las SE25 y SE26 en los dos últimos años, mientras que en el 2015, el pico ocurrió en la SE31.

Respecto a los agentes implicados, en el periodo estudiado en el año 2015, el índice de positividad fue del 34% cuya frecuencia observada fue FLU B 45%, VSR 39%, FLU A 10% y PI 6%. En 2016, a pesar de un aumento de casos estudiados, solo se obtuvo un porcentaje de positividad del 6%, siendo el predominante FLU A (H1N1) pdm09; seguido de FLU B 9% y VSR 3%. En el año 2017, solo el 2% resultó positivo, cuya frecuencia fue: FLU A 45%, FLU B 33% y VSR 22%, identificándose ambas cepas de FLU A (H1N1) pdm09 y A (H3N2).

En base a este estudio podemos concluir que el diagnóstico microbiológico rápido y preciso y el conocimiento epidemiológico de las enfermedades respiratorias en la población estudiada permitieron la instauración oportuna del tratamiento específico y la reducción del uso inadecuado de antimicrobianos. También se logró documentar y difundir la situación local de la vigilancia epidemiológica laboratorial de los virus respiratorios de mayor impacto en salud.

A partir de los resultados de este estudio sería importante realizar gestiones de manera tal que el IPSM se constituya en una UC debido que la estrategia de UC es una metodología sencilla, ágil, económica, específica y oportuna que permite identificar la tendencia de la ocurrencia de la influenza en el tiempo, ya que cuenta con los tres componentes básicos requeridos para tal fin: clínico, laboratorio y epidemiológico.



### 3.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Boeckh M. The challenge of respiratory virus infections in hematopoietic cell transplant recipients. *Br J Haematol.* 2008;143:455---67.
2. Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ, O'Brien KL, Roca A, Wright PF, Bruce N, Chandran A, Theodoratou E, Sutanto A, Sedyaningsih ER, Ngama M, Munywoki PK, Kartasasmita C, Simões EA, Rudan I, Weber MW, Campbell H. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: A systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2010;375:1545---55.
3. Gerardo Muñoz-Cortés,a Guadalupe Ulises García-Zavala,a María Elena Estrada-Andradeb. Enfermedad tipo influenza Experiencia terapéutica en medicina.Familiar. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2013;51(4):444-9.
4. Carballal G y Echevarria M. Infecciones respiratorias de origen viral: impacto y diagnostico etiológico. Capitulo 13. Pag 261-263. *Virología medica.* 4ta edición.
5. Carballal G y Echevarria M. Infecciones respiratorias de origen viral: impacto y diagnostico etiológico. Capitulo 14. Pag 273-274. *Virología medica.* 4ta edición.
6. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79: 2814-2822.
7. Toro Montoya AI, Aguirre Muñoz C. Influenza A. *Medicina & Laboratorio* 2009; 15: 111-131.
8. Compans RW, Meier-Ewert H, Palese P. Assembly of lipid-containing viruses. *J Supramol Struct* 1974; 2: 496-511.
9. Richardson JC, Akkina RK, NS2 protein of influenza virus is found in purified virus and phosphorylated in infection cells. *Arch Virol* 1991; 116: 69-80.
10. Klenk HD, Rott R, Orlich M, Blodorn J. Activation of influneza A viruses by trypsin treatment. *Virology* 1975; 68: 426-439

11. Connor RJ, Kawaoka Y, Webster RG, Paulson JC. Receptor specificity in human, avian, and equine H2 and H3 influenza virus isolates. *Virology* 1994; 205: 17-23.
12. Couceiro JN, Paulson JC, Baum LG. Influenza virus strains selectively recognize sialyloligosaccharides on human respiratory epithelium; the role of the host cell in selection of hemagglutinin receptor specificity. *Virus Res* 1993; 29: 155-165.
13. Ito T, Couceiro JN, Kelm S, Baum LG, Krauss S, Castrucci MR, et al. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol* 1998; 72: 7367-7373.
14. Steinhauer DA, Skehel JJ. Genetics of influenza viruses. *Ann Rev Genet* 2002; 36: 305-332.
15. Aguirre-Muñoz CA, Arango-Restrepo AE. Influenza aviar: estado actual. *Medicina & Laboratorio* 2006; 12: 411-437.
16. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992; 56: 152-179.
17. Update: novel influenza A (H1N1) virus infections-worldwide, May 6, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009; 53: 453-458.
18. Monto AS. Epidemiology of influenza. *Vaccine* 2008; 26 Suppl 4: D45-48.
19. Glezen WR. Serious morbidity and mortality associated with influenza epidemics. *Epidemiol Rev* 1982; 4: 25-44.
20. Simonsen L. The global impact of influenza on morbidity and mortality. *Vaccine* 1999; 17: Suppl 1: S3-10.
21. Barker WH, Mullooly JR. Impact of epidemic type A influenza in a defined adult population. *Am J Epidemiol* 1980; 112: 798-811.
22. Sprenger MJ, Mulder PG, Beyer WE, Van Strik R, Masurel N. Impact of influenza on mortality in relation to age and underlying disease, 1967-1989. *Int J Epidemiol* 1993; 22: 334-340.
23. Jordan WS, Jr., Badger GF, Dingle JH. A study of illness in a group of Cleveland families. XVI. The epidemiology of influenza, 1948-1953. *Am J Hyg* 1958; 68: 169-189.

24. Alford RH, Kasel JA, Gerone PJ, Knigh V. Human influenza resulting from aerosol inhalation. *Proc Soc Exp Biol Med* 1966; 122: 800-804.
25. Douglas RG. Influenza in man. En: Kilbourbe ED, ed. *Influenza virus and influenza*. New York; Academic Press. 1975: 397-446.
26. National Respiratory and Enteric Virus Surveillance System. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/nrevss/eadfeat.htm>
27. Rachel Y, Moon MD. Adenovirus infections. *Pediatrics inreview* 1999; 20:230-2.
28. Fener F.: Classification and nomenclature of viruses. *Intervirolgy* 1976, 1-115.
29. Hierholzer J, Wigand R , Anderson L , et al. Adenoviruses from patients with AIDS: A plethora of serotypes and a description of five new serotypes. *J Infect Dis* 1998; 15:804-13.
30. Horwitz M. *Virology*. 2nd ed New York: Reven Press: 1990.
31. Bernaola G, Luque W. *Fisiopatología de las Infecciones por Adenovirus*. Volumen 4, Nº 2, Oct. 2001 - Mar. 2002
32. The adenovirus 5E1A page. <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Hangar/2541/-3k->
33. Andrew S, Day D, Mc Gregor D. Fatal adenoviral disease in siblings. *Pediatr Infec Dis J* 1998; 17:83-5.
34. Carballal G, Videla C M. Virus Sincicial Resperatorio. Carballal G, Oubiña J R. *Virología Médica*. 4ed Ed Corpus. 2015;15.2: 294-299.
35. Carballal G, Videla C M. Características de la familia Paramyxoviridae. Carballal G, Oubiña J R. *Virología Médica*. 4ed Ed Corpus. 2015;15.1:289-293
36. Glezen W P, Greenberg S B, Atmar R L, Piedra P A, Couch R B. Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions. *JAMA* 2000; 283: 499-505.
37. Redd G, Jewett P H, Thompson J, Tollefson S, Wright P F. Epidemiology and clinical impact of parainfluenza virus infections in otherwise healthy infants and young children < 5 years old. *J Infec Dis* 1997; 175: 807-13.

38. Kim M R, Lee H R, Lee G M. Epidemiology of acute viral respiratory tract infections in Korean children. *J Infect* 2000; 41: 152-8.
39. Iwane M K, Edwards K M, Szilagyi P G, Walker F J, Griffin M R, Weinberg G A, et al. New Vaccine Surveillance Network. Population-based surveillance for hospitalizations associated with respiratory syncytial virus, influenza virus, and parainfluenza viruses among young children. *Pediatrics* 2004; 113: 1758-64.
40. Knott A, Long C, Hall C. Parainfluenza virus infections in pediatric outpatients: seasonal patterns and clinical characteristics. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 269-73.
41. Whimbey E, Englund J A, Couch R B. Community respiratory virus infections in immunocompromised patients with cancer. *Am J Med* 1997; 102: 10-8.
42. Henrickson K J. Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 242-64.
43. Storey D G, Dimock K, Kang C Y. Structural characterization of virion proteins and genomic RNA of human parainfluenza virus 3. *J Virol* 1984; 52: 761-6.
44. Slavin K A, Passaro D J, Hacker J K, Hendry R M, Kohl S. Parainfluenza virus type 4: case report and review of the literature. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 893-6.
45. Glezen W P, Frank A L, Taber L H, Kasel J A. Parainfluenza virus type 3: seasonality and risk of infection and reinfection in young children. *J Infect Dis* 1984; 150: 851-7.
46. Henrickson K J, Kuhn S M, Savatski L L. Epidemiology and cost of infection with human parainfluenza virus types 1 and 2 in young children. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 770-9.
47. Carballal G, Videla C M, Espinosa M A, Savy V, Uez O, Sequeira M D, et al. Multicentered study of viral acute lower respiratory infections in children from four cities of Argentina, 1993-1994. *J Med Virol* 2001; 64: 167-74.
48. Tsai H P, Kuo P H, Liu C C, Wang J R. Respiratory viral infections among pediatric inpatients and outpatients in Taiwan from 1997 to 1999. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 111-8.

49. Denny F W, Murphy T F, Clyde W A Jr, Collier A M, Henderson F W. Croup: an 11- year study in a pediatric practice. *Pediatrics* 1983; 71: 871-6.
50. Iñiguez F, Vega-Briceño L E, Pulgar D, Díaz P C, Sánchez D I. Laringotraqueobronquitis en niños hospitalizados: Características clínicas. *Rev Chil Pediatr* 2005; 76: 357-62.
51. Denny F W, Clyde W A Jr. Acute lower respiratory tract infections in nonhospitalized children. *J Pediatr* 1986; 108 (5 Pt 1): 635-46.
52. Shay D K, Holman R C, Newman R D, Liu L L, Stout J W, Anderson L J. Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1996. *JAMA* 1999; 282: 1440-6.
53. GUIA IRAG 2011-OPS
54. Abordaje Integral de las Infecciones Respiratorias Agudas GUIA PARA EL EQUIPO DE SALUD. 2010
55. Pagarolas AA y Pumarola Suñé T. Diagnóstico microbiológico de las infecciones virales respiratorias en el paciente adulto. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(Supl 1):51-56
56. Manual para el fortalecimiento de la vigilancia de la enfermedad tipo Influenza utilizando la estrategia de Unidades Centinela
57. Recomendaciones para la vigilancia, prevención y atención de las Infecciones Respiratorias Agudas en Argentina. BOLETIN INFORMATIVO 2014. MINISTERIO DE SALUD PUBLICA.
58. Housworth J, Langmuir AD. Excess mortality from epidemic influenza, 1957-1966. *Am J Epidemiol* 1974; 100: 40-8.
59. Estimates of deaths associated with seasonal influenza United States, 1976-2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010; 59 (33):1057-62.
60. Kuszniarz G, Cociglio R, Beltramino JC, Pierini J, De Jorge J, Gómez A, Pigliacampo G, Carrasco E, Cesoni A y Imaz S. Monitoreo de la actividad de influenza en Santa Fe, Argentina, 2005-2010. *Rev Chilena Infectol* 2014; 31 (2): 131-138.
61. Situación actual de la enfermedad por virus Influenza y su relación con la vacuna antigripal. 28 de junio de 2017. SE 26. MINISTERIO DE SALUD DE LA NACION

62. Guía de Vigilancia 1 Epidemiológica y Recomendaciones para la prevención y Diagnóstico de las Infecciones Respiratorias Agudas en Argentina
63. Olson D R, Heffernan R, Paladini M, Konty K, Weiss D, Mostashari F. Monitoring the impact of influenza by age: emergency department fever and respiratory complaint surveillance in New York City. *PLoS Med* 2007; 4 (8): e247.doi:101371/journal.p.med.0040247. (accedido 01/07/2012).
64. Cámara Larrauri A, Jiménez-J S, Méndez S L, Ontañón S M. Vigilancia de la pandemia de gripe (H1N1) 2009 España. *Rev Esp Salud Pública* 2010; 84: 569-88.
65. Fleming D M, Elliot A J. Lessons from 40 years`surveillance of influenza in England and Wales. *Epidemiol. Infect* 2008; 136: 866-75.
66. Yohannes K, Roche P, Hampson A, Miller M, Spencer J. Annual Report of the National Influenza Surveillance Scheme, 2003. *Commun Dis Intell* 2004; 28: 160-8.
67. Uez O. Vigilancia epidemiológica de las virosis respiratorias en Argentina. *Virología Médica. Editorial Corpus* 2015:17:318-23.
68. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación (Argentina). Boletín Integrado de Vigilancia. Secretaria de Promoción y programas sanitarios, N° 290 – SE 51 Diciembre. 2015:2-83
69. Importancia del Monitoreo Epidemiológico de las Infecciones Respiratorias Agudas de Origen Viral. *Bioq. María Lucrecia Conti. Bioanálisis I Nov · Dic* 12
70. Avendaño L. Infecciones virales respiratorias. Capítulo 12. En: de Aguirre Cox., *Virología Clínica* 1era edición. Santiago, Chile. Mediterráneo. 2011; págs.117-36.
71. Bon zel L, Tenenbaum T, Schrotten H, Schildgen O, Schweitzer -Krantz S, Adams O. Frequent detection of viral coinfection in children hospitalized with acute respiratory tract infection using a real-time polymerase chain reaction. *Ped Infect Dis J* 2008; 27: 589-94.
72. Briese T, Palacios G, Kokoris M, Jabado O, Liu Z, Renwick N, et al. Diagnostic system for rapid and sensitive differential detection of pathogens. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 310-3.

73. Halasa NB, Williams JV. Medical and economic impact of respiratory syncytial virus outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatric Infect Dis J* 2005;24:3231-3235.
74. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación (Argentina). Boletín Integrado de Vigilancia. Secretaria de Promoción y programas sanitarios, N° 287 – SE 48. Diciembre. 2015.
75. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación (Argentina). Boletín Integrado de Vigilancia. Secretaria de Promoción y programas sanitarios, N° 328 – SE 38 – Septiembre. 2016.
76. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación (Argentina). Boletín Integrado de Vigilancia. Secretaria de Promoción y programas sanitarios, N° 381– SE 41 Octubre 2017.
77. Andino G, Ruiz Díaz N, Espinoza J, Cóceres M, Lezcano R, Pisarello MS. Diagnóstico y vigilancia epidemiológica de virus respiratorios en la provincia de Corrientes. *Rev. Argent Salud Pública*. 2017; Mar; 8(30):37-39.
78. Instrucciones para médicos clínicos sobre el uso de RT-PCR y otros ensayos moleculares para el diagnóstico de infección por el virus de la Influenza. CDC: Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades. [Abril 2016]. Disponible en: <http://www.espanol.cdc.gov/enes/flu/professionals/diagnosis/molecular-assays.htm>.
79. Eiros JM, García Bermejo I, Malvar Pinto A, González F, Torrecilla A. Protocolo para el uso de pruebas diagnósticas de la nueva gripe pandémica A H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>. 2009. España. 2-13.
80. Review of the 2015 influenza season in the southern hemisphere. *WEEKLY EPIDEMIOLOGICAL RECORD*, No. 48, 2015, 90, 645–660 disponible en <http://www.who.int/wer>.
81. Review of global influenza activity, October 2015–October 2016. *WEEKLY EPIDEMIOLOGICAL RECORD*, Nos. 51/52, 2016, 91, 601–624. disponible en <http://www.who.int/wer>.

82. Review of global influenza activity, October 2016– October 2017. Weekly epidemiological record, No 50, 2017, 92, 761–780 disponible en <http://www.who.int/wer>.
83. Potocolo de vigilancia laboratorial de influenza y otros virus respiratorios. versión 1.0 del 27/12/2007. Ministerio de salud del Perú. Instituto Nacional de Salud.
84. Raskovsky V, Lavaque E D, Agüero F, Adamo M P, Baumeister E. Vigilancia de virus respiratorios en Salta, Argentina, 2010-2016. Libro de Resúmenes, CAV, 2017.



## CAPÍTULO IV

---

## ANEXO I



**MISIONES**  
PROVINCIA

MINISTERIO  
DE SALUD PÚBLICA

### FICHA CLINICO EPIDEMIOLOGICA ENFERMEDAD TIPO INFLUENZA ETI

**DEFINICIÓN DE CASO OMS:** Enfermedad Respiratoria aguda febril (mayor de 38º), con dolor de garganta y o tos, en ausencia de otras causas.

Apellido y Nombre.....

Fecha de Nacimiento...../...../..... Edad..... Sexo..... Tel.....

DNI.....

Domicilio..... Ciudad:.....

Fecha toma de muestra..... /...../.....

Paciente vacunado SI NO Fecha de vacunación...../...../.....

Lugar de atención			Ambulatorio
Comienzo de Síntomas ..... /...../.....			Internado
			UTI GRAL.
Periodo de estado (2 a 7 días) tildar lo que corresponda:			
Fiebre > 38º C	Cefalea	Mialgia	Postración
Coriza	Dolor de garganta	Tos moderada	Tos intensa
Nauseas	Vomito	Diarrea 25%de los niños	

Tratamiento Antivirales SI NO Cuál.....  
Antibióticos: SI NO

Enfermedad crónica o recidivante: SI NO Cual.....

Comorbilidades: Embarazo....  
DBT..... Enf. Respiratoria crónica.....

Asma.... Insuf. Renal/transplante..... Inmunosupresión.....

Antecedentes de viajes..... Lugar y fecha.....

Contacto con paciente sospechoso de influenza SI NO

Nombre y Apellido	Domicilio	Teléfono

#### **DATOS DEL MEDICO**

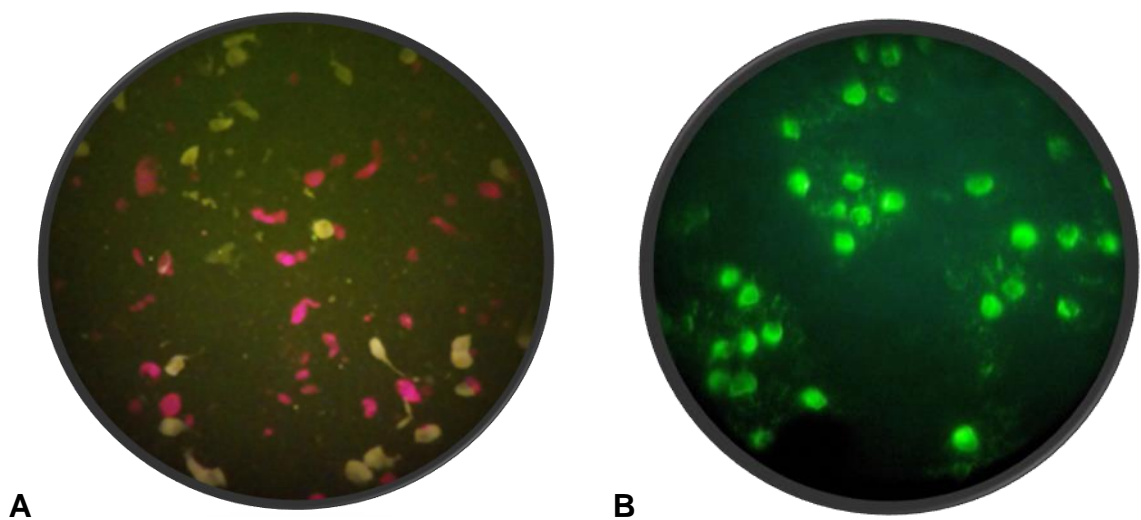
Nombre y Apellido.....Firma.....

Institución.....Teléfono.....

## ANEXO II

### INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

Fundamento del método: Los anticuerpos monoclonales de ratón se unen al antígeno vírico apropiado en la muestra fijada al portaobjetos. El anticuerpo no unido se elimina con solución salina tamponada con fosfato (PBS). Posteriormente se adiciona IgG de cabra anti-ratón marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC), que se une al complejo antígeno-anticuerpo. El anticuerpo marcado no unido se lava con PBS. Al ser excitado con luz ultravioleta, el FITC muestra una fluorescencia de color verde manzana que permite la visualización del complejo mediante microscopia de fluorescencia. La fluorescencia celular indica positividad de la muestra. Las células no infectadas se tiñen de un color rojo pálido en el citoplasma y un color rojo oscuro en el núcleo debido a la presencia del colorante de contraste Azul de Evans con el anticuerpo secundario marcado con FITC (Figura 20).



**Figura N°20.** Células negativas (A) y positivas (B). IFI. 40x

### Desarrollo de la técnica:

#### **Preparación de improntas**

1. Se agregó 2,0 ml de PBS en un tubo cónico estéril de 10 ml.
2. Se retiró la muestra del envase original y se colocó en el tubo con PBS. Se resuspendió el material de los hisopos girando el mismo y presionando sobre las paredes del tubo; este paso se repitió varias veces hasta que se observó turbidez del preparado, lo que nos indicaba presencia de células en suspensión.
3. Se mezcló agitando en el vórtex o manualmente dando golpes con los dedos.
4. Se centrifugó entre 1500 a 2000 rpm, durante 10 minutos.
5. Se descartó el sobrenadante y lavó el sedimento celular mediante suave resuspensión en 2,0 ml de PBS.
6. Se repitieron los pasos 3 a 5 al menos otras 3 veces.
7. Se resuspendieron las células sedimentadas en 1 ml de PBS estéril para obtener una suspensión ligeramente turbia.
8. Se tomó una gota de la suspensión celular y se dispuso sobre los pocillos en los portaobjetos previamente limpios (se reservó una alícuota para las técnicas moleculares).
9. Se esperó a que el portaobjetos se seque al aire totalmente.
10. Se fijaron los portaobjetos en acetona fría (2 a 8 °C) durante 10 minutos.

#### **Coloración y revelado:**

1. Una vez secos, se agregó una gota del Respiratory Virus Screen cuando se realizó el screening, o 15 µl de anticuerpo específico de identificación para

confirmar y 15 µl de anticuerpo normal de ratón reactivo de testigo negativo para cubrir las células.

2. Se incubaron los portaobjetos a 37 °C durante 30 minutos en cámara húmeda.

3. Se enjuagaron suavemente con una piseta de PBS/Tween 20 durante 10 a 15 segundos para eliminar el exceso de solución de anticuerpo monoclonal.

4. Se colocaron en una placa de tinción y se cubrieron con PBS. Luego se enjuagaron 2 a 3 veces durante 5 a 10 minutos con PBS.

5. Se retiró el exceso de los reactivos del portaobjetos y se secó cuidadosamente el área que rodea la mancha de células.

6. Se agregó una gota de FITC-conjugate (Anti-Mouse IgG) para cubrir las células.

7. Se incubó nuevamente el portaobjetos a 37 °C durante 30 minutos en cámara húmeda

8. Se repitieron los pasos de lavado con solución PBS/Tween 20, retirando el exceso de reactivos del portaobjetos y secando cuidadosamente el área que rodea la mancha de células.

10. Se agregó medio de montaje acuoso (pH 8,5) y se cubrió con un cubreobjetos.

11. Se secó el exceso de líquido de los bordes del portaobjetos.

### **Lectura e interpretación**

Los portaobjetos preparados se examinaron con un microscopio de fluorescencia a 10x en busca de células que presenten fluorescencia y se realizó un examen detallado a 40x. Los patrones de tinción se observan en la Tabla 4.

**Tabla N°4.** Patrones de fluorescencia - IFI

<b>VIRUS RESPIRATORIOS</b>	<b>PATRON DE FLUORESCENCIA</b>
<b>ADV</b>	<i>La fluorescencia es nuclear, citoplasmática o ambas. La tinción nuclear es uniformemente brillante y la citoplasmática es a menudo punteada</i>
<b>FLU A y B</b>	<i>La fluorescencia es nuclear, citoplasmática o ambas. La tinción nuclear es uniformemente brillante y la citoplasmática es a menudo punteada, con inclusiones grandes</i>
<b>PI 1, 2 y 3</b>	<i>La fluorescencia esta confinada al citoplasma, punteada con inclusiones irregulares</i>
<b>VSR</b>	<i>La fluorescencia se localiza en el citoplasma y se asocia a los sincicios. La tinción citoplasmática es punteada con inclusiones pequeñas.</i>

## ANEXO III

### TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR

Extracción de ARN: El ARN total fue extraído mediante la utilización del kit QIAmp® Viral ARN (Qiagen) de acuerdo con las instrucciones suministradas por el fabricante.

#### Procedimiento

- 1) Se pipeteó 560 µl de buffer AVL en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml. El buffer AVL contiene: Tiocianato de Guanidina
- 2) Se añadió 140 µl de muestra en el buffer AVL. Se mezcló por vortex durante 15 segundos, para asegurar la lisis eficiente. (Todos los agentes infecciosos y RNAsas se inactivan en el tampón). Se incubó a temperatura ambiente a (15-25° C) durante 10 minutos.
- 3) Se centrifugó brevemente en microcentrífuga para eliminar las gotas del interior de la tapa.
- 4) Se añadió 560 µl de Etanol (96 – 100 %) a la muestra y se mezcló por vortex durante 15 segundos. Luego se centrifugo brevemente para eliminar las gotas del interior de la tapa.
- 5) Se colocó 630 µl de la solución anterior en la columna de QIAmp Mini spin (tubo de recogida de 2 ml) sin mojar los bordes. Se centrifugó 6000 g (8000 rpm) durante 1 minuto. Se colocó la columna QIAmp Mini spin en un tubo limpio de 2 ml y se desechó el tubo que contiene el filtrado.
- 6) Se repitió el paso anterior
- 7) Se añadió 500 µl de buffer AW1. Se centrifugó a 6000 g (8000 rpm) durante 1 min. Se desechó el tubo que contiene el filtrado y se colocó la columna en otro tubo de 2 ml. El buffer AW1 contiene: Clorhidrato de Guanidina.

8) Se añadió 500 µl de buffer AW2 y se centrifugó a 20.000 g (13000 rpm) durante 5 min. Se desechó el tubo que contiene el filtrado y se colocó la columna en un eppendorf de 1,5 ml.

9) Se añadió 60 µl de buffer AVE (para elución del ARN viral) se incubó a temperatura ambiente durante 1 min. Buffer AVE es agua libre de RNAsas y contiene 0,04 % de azida de sodio para evitar el crecimiento microbiano y posterior contaminación con RNAsas.

10) Se centrifugó a 6000 g (8000 rpm) durante 1 min.

Se obtuvo así el ARN viral que es estable por un año mantenido a temperatura de -20 °C.

Amplificación fragmento del gen de la HA para la detección del virus Influenza

B: Se realizó mediante RT-PCR utilizando el protocolo descrito por la OMS. Se amplificó un fragmento del gen HA con cebadores BHAF1a y BHAR1341.

**Tabla N°5.** Primers utilizados para RT-PCR para la amplificación de FLU B.

TIPO / SUBTIPO	Fragmento de gen	Primer	Secuencia	Producto de PCR (pb)
FLU B	5'	BHAF1u BHAR1341	TATTCGTCTCAGGGAGCAGAAGCAGAGCATTTC TAATATC TTCGTTGTGGAGTTCATCCAT	1361
	3'	BHAF458 BHA2R1	AGAAAAGGCACCAGGAGGACCCTA GTAATGGTAACAAGCAACAAGCA	1391

La amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl que contenía una mezcla de reacción: Agua: 9,5 µl; buffer 5x QIAGEN RT-PCR: 5 µl; dNTPs: 1 µl (10mM c/dNTP); 1,5µl de cebadores; RT-PCR Enzyme Mix: 1 µl; RNAsa inhibidor: 0,5µl. Se fraccionó 20 µl de la mezcla de reacción en cada tubo de PCR. Se agregó 5 µl del extracto de ARN a cada tubo de reacción.

La PCR se llevó a cabo utilizando un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGene™II Personal ThermalCyclerI. Se obtuvo un amplicón de 1365 pb para el extremo 5' y 1312 para el 3'.



La desnaturalización del ADN ocurrió a 94°C durante 15 minutos seguida de 45 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 50°C y 1 minuto a 72°C, seguidos de una extensión final de 10 minutos a 72°C.

Como control negativo de la RT-PCR se utilizó la misma mezcla de reacción a la que se agregó agua ultra pura, y como control positivo muestras cedidas por el Servicio de Virus Respiratorio del INEI-ANLIS Carlos Malbrán.

Los productos de amplificación se corrieron por electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, a 120 voltios durante 60 minutos y se observaron por exposición a luz ultravioleta en un transiluminador.

Amplificación del gen de la HA del virus Influenza A (H1N1) y A (H3N2): A partir del ARN, se realizó la transcripción reversa (TR), seguido de la PCR en donde se amplificó el gen HA1 de los virus Influenza A (H1N1) y HA3 del virus Influenza A (H3N2), para ello se utilizaron los oligonucleótidos que se detallan en la Tabla 6.

**Tabla Nº 6.** Primers utilizados para RT-PCR para la amplificación de FLU A H1N1 y H3N2.

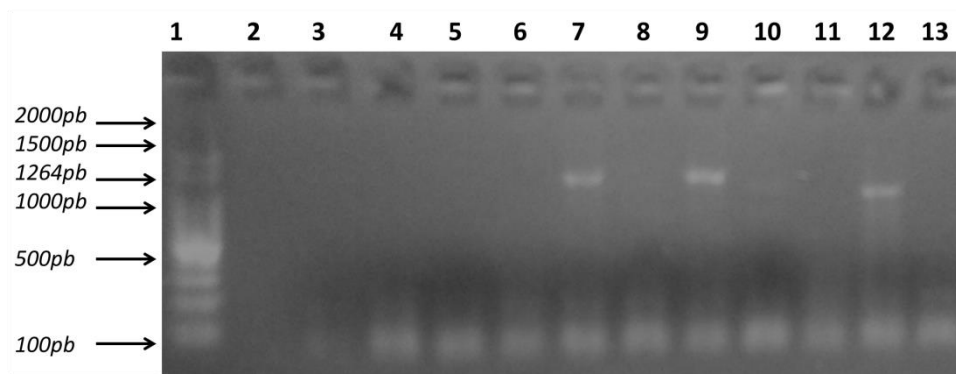
TIPO / SUBTIPO	Fragmento de gen	Primer	Secuencia	Producto de PCR (pb)
FLU A H1N1 2009	5'	H1F1 H1R1264	AGCAAAAGCAGGGGAAAATAAAAGC CCTACTGCTGTGAACTGTGTATTC	1264
	3'	H1F848 HARUC	GCAATGGAAAGAAATGCTGGATCTG ATATCGTCTCGTATTAGTAGAAACAAGGGTGTTTT	945

FLU A H3N2	5'	H3A1F6 H3A1R1	AAGCAGGGGATAATTCTATTAACC GTCTATCATTCCCTCCCAACCATT	1127
	3'	H5A1F3 HARUC	TGCATCACTCCAAATGGAAGCATT ATATCGTCTCGTATTAGTAGAAACAAGGGTGTTTT	863

Se preparó una mezcla de reacción considerando un volumen final de 25 µl de acuerdo a las siguientes proporciones por tubo de reacción: Agua para PCR: 9,5 µl; buffer 5x QIAGEN RT-PCR: 5 µl; dNTPs: 1 µl (10mM c/dNTP); 1,5µl de primers; RT-PCR Enzime Mix: 1 µl; RNAsa inhibidor: 0,5µl. Se fraccionó 20 µl de la mezcla de reacción en cada tubo de PCR y se agregó 5 µl del extracto de ARN a cada tubo de reacción.

Se usó 5µl de agua destilada libre de ARNasa para el control negativo y como control positivo se procesaron muestras controles de Influenza A H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>, Influenza A H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> cedidas por el Servicio de Virus Respiratorio del INEI-ANLIS Carlos Malbrán. Las mismas proceden de las cepas A/Argentina/17/2009(H1N1) pdm09 y A/NewYork/55/2004(H3N2).

La amplificación *in vitro* del ARN por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Reversa (RT-PCR) y la electroforesis en gel de agarosa se realizaron de igual manera como se describió anteriormente (Figura 21).



**Figura N°21.** Electroforesis de los productos de la RT-PCR del gen HA1. Calle 1: PM de 100 a 2000pb, Calle 12: control positivo H1N1, Calle 13: control negativo, Calle 2,3,4,5,6,8,10 y 11: muestras negativas, Calle 7 y 9: muestras positivas.