

Informe de vigilancia basada en laboratorio:
Influenza y otros virus respiratorios, Costa Rica
2019



Contenido

Abreviaturas

Objetivo

Introducción

Resultados de la vigilancia basada en el
laboratorio

Caracterización de virus Influenza circulantes en
Costa Rica

Recomendaciones para la composición de la
vacuna de influenza

Consideraciones finales

Cita sugerida: Brenes H, “Informe de vigilancia basada en el laboratorio: Influenza y otros virus respiratorios, Costa Rica, 2019”. Tres Ríos, Costa Rica, INCIENSA, 2020

Abreviaturas

CC-OMS: Centro Colaborador de la OMS

CCSS: Caja Costarricense de Seguro Social

CDC: Centros para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos de América

CNI: Centro Nacional de Influenza

CNRV: Centro Nacional de Referencia de Virología

EEUU: Estados Unidos de América

ETI: Enfermedad Tipo Influenza

HA: Hemaglutinina

IRAG: Infección Respiratoria Aguda Grave

IRR: International Reagent Resource

OMS: Organización Mundial de la Salud

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa

VRS: Virus Respiratorio Sincicial

Objetivo

Informar sobre el comportamiento durante el año 2019 de los virus respiratorios bajo vigilancia, de acuerdo con las muestras recibidas y procesadas en el CNRV de Inciensa.

Introducción

El “Protocolo Nacional para la Vigilancia de Personas con Influenza y otras virosis respiratorias” en su versión de julio de 2018 establece la guía nacional para identificar cambios en las tendencias y estacionalidad de la circulación de los virus respiratorios y detectar virus Influenza con potencial pandémico, mediante el monitoreo de la incidencia de ETI e IRAG. Para lograr lo anterior, el país implementó en 2010 la vigilancia centinela de la influenza, y con el tiempo se ha ampliado a otras virosis respiratorias.

En el marco de la vigilancia centinela, los hospitales que forman parte de una unidad centinela deben enviar cada semana epidemiológica el 100 % de muestras respiratorias de pacientes que cumplan con la definición de caso de IRAG. Por otro lado, las áreas de salud que forman parte de una unidad o sitio centinela deben enviar 3 muestras respiratorias por semana de pacientes que cumplan la definición de caso de ETI, excepto el Área de Salud de Pavas que debe enviar 5 muestras por semana debido a su alta densidad poblacional. Finalmente, todos los hospitales que no forman parte de una unidad centinela deben enviar todas las muestras respiratorias de los pacientes del grupo especial de vigilancia intensificada de IRAG, mismo que se define en el protocolo de vigilancia. Estas son las muestras que al ser procesadas en Inciensa permiten generar la información mostrada en el presente documento.

Todas las muestras fueron procesadas por inmunofluorescencia directa, utilizando anticuerpos monoclonales para detectar antígenos de los virus Influenza A, Influenza B, VRS, Adenovirus, Parainfluenza 1, Parainfluenza 2 y Parainfluenza 3. Por otro lado, las muestras de pacientes que cumplían la definición de caso de ETI y que tenían algún factor de riesgo fueron procesadas por RT-PCR para detección de virus Influenza A y B, además de todos los pacientes que cumplían la definición de caso de IRAG, lo anterior sin importar el resultado de la inmunofluorescencia, puesto que esta última es menos sensible.

Finalmente, las muestras positivas por Influenza A o B fueron caracterizadas por subtipo para el caso de los virus Influenza A y por linaje para el caso de los virus Influenza B, utilizando también RT-PCR en tiempo real. Todas las RT-PCR se ejecutaron siguiendo los lineamientos del CDC, utilizando sondas y cebadores provistos por el IRR para los CNI y otros laboratorios de referencia.

No está de más informar que el protocolo de vigilancia establece ciertos criterios de no procesamiento de muestras, cada uno de los cuales tiene un objetivo definido, dentro de los que se pueden mencionar por ejemplo asegurar la oportunidad del resultado, propiciar una buena calidad de la muestra o garantizar una correcta captura de datos epidemiológicos críticos.

Resultados de la vigilancia basada en el laboratorio

Detección de virus respiratorios

Durante el año 2019, el CNI procesó un total de 2581 muestras, de las cuales 1226 (48 %) fueron positivas por al menos un virus respiratorio, siguiendo la distribución descrita en la figura 1, en la que claramente se aprecia la circulación de VRS de forma importante durante todo el año, y un pico de virus Influenza A marcado entre la semana 21 y 28. Es importante mencionar que en 2019 la vacunación inició el 11 de junio (semana 24), es decir, el pico de transmisión de influenza inició antes de la campaña de vacunación, sin embargo, fue posible observar un efecto positivo de la misma, puesto que la temporada de influenza terminó alrededor de cuatro semanas después de haber iniciado la vacunación. No se observa un patrón de circulación marcado para alguno de los otros virus respiratorios, a excepción de Influenza B, en el que aumentó la transmisión hacia las últimas semanas del año. En la figura 2 se aprecia prácticamente el mismo comportamiento, expresado mediante el porcentaje de positividad para cada uno de los virus respiratorios.

En cuanto a las regiones de la CCSS de las que provinieron las muestras positivas por virus respiratorios, la mayoría fueron enviadas por establecimientos de salud de la Región Central Sur (en su mayoría el Hospital Max Peralta Jiménez y el Área de Salud de Pavas), mientras que para el virus Influenza se observa un leve predominio de muestras provenientes de hospitales nacionales, que corresponde en su gran mayoría a muestras enviadas por el Hospital Nacional de Niños para confirmación y subtipificación de muestras positivas por Influenza A en inmunofluorescencia. También es importante hacer notar la representación mayoritaria de VRS en la región Brunca (principalmente), seguido de la Huetar Norte y la Central Sur. De acuerdo con lo anterior, y en lo que a la región Brunca para detección de VRS respecta, la mayoría de las muestras fueron enviadas por el Hospital Escalante Pradilla; para la Huetar Norte fue el Hospital de San Carlos y para la Central Sur el Hospital Max Peralta Jiménez. Tomando en cuenta lo anterior, y el hecho que los hospitales envían muestras de pacientes que cumplen la definición de caso de IRAG, se puede intuir la capacidad del VRS para causar cuadros respiratorios que necesitan hospitalización, capacidad que es compartida con el virus Influenza, principalmente.

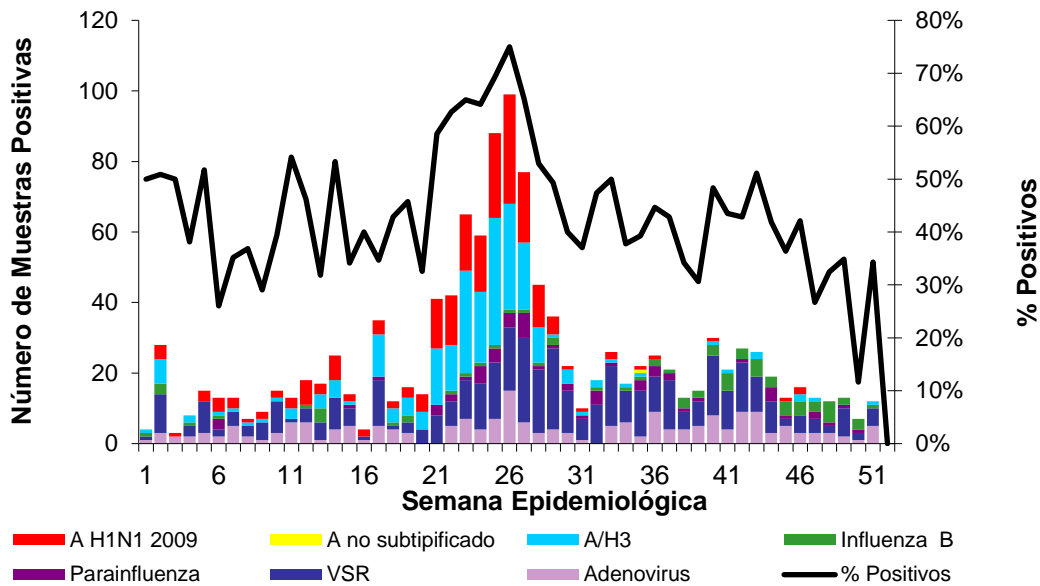


Figura 1. Distribución de virus Influenza y otros virus respiratorios en vigilancia según semana epidemiológica. CNI-CNRV-Inciensa. 2019

Se debe mencionar que en la figura 3, la categoría “No Aplica” se refiere a laboratorios que no forman parte de la red de laboratorios de la CCSS, y que corresponden para esta figura a la Morgue Judicial del OIJ, a la Clínica Católica y al Hospital CIMA.

En cuanto a la distribución por grupos de edad de las muestras en las que se detectó algún virus respiratorio, es claro el predominio de VRS en las muestras de pacientes menores a 5 años (figura 4), mientras que el virus Influenza predomina en los demás grupos, sin una marcada diferenciación para alguno de los dos subtipos de Influenza A.

La figura 5 muestra una representación acumulada de los virus respiratorios detectados de acuerdo con la proporción de cada uno, y siendo consecuente con lo hablado anteriormente, hay mayor representación de muestras positivas por Influenza A (38 %), seguido de VRS (34 %), y también un porcentaje nada despreciable del 17 % para Adenovirus. En cuanto a Influenza B, el linaje de B/Victoria circuló de forma predominante, situación influenciada probablemente por el surgimiento de un virus de este linaje con una doble delección de aminoácidos, que se estableció de manera muy exitosa.

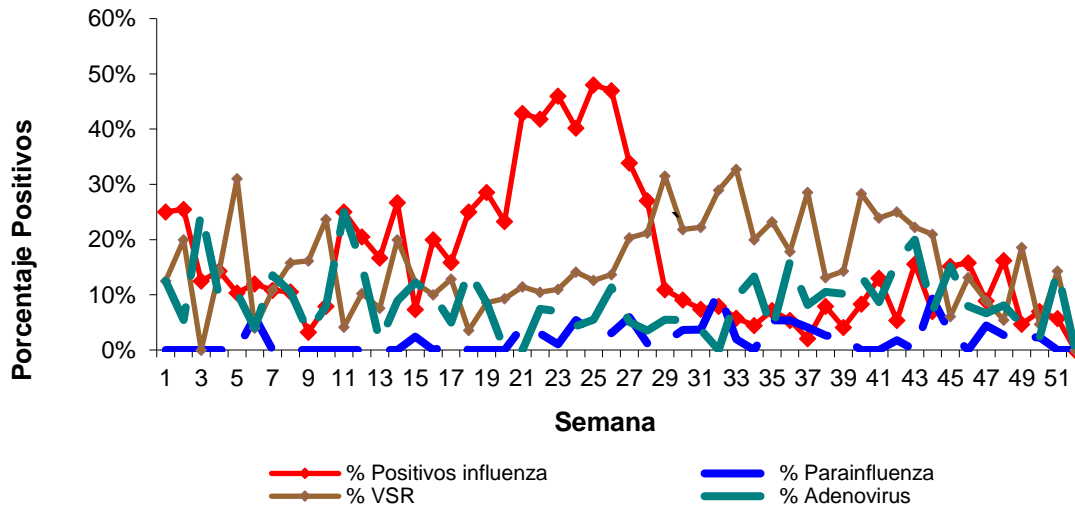


Figura 2. Porcentaje de pruebas positivas influenza, en comparación con otros virus respiratorios. CNI-CNRV-Inciensa. 2019

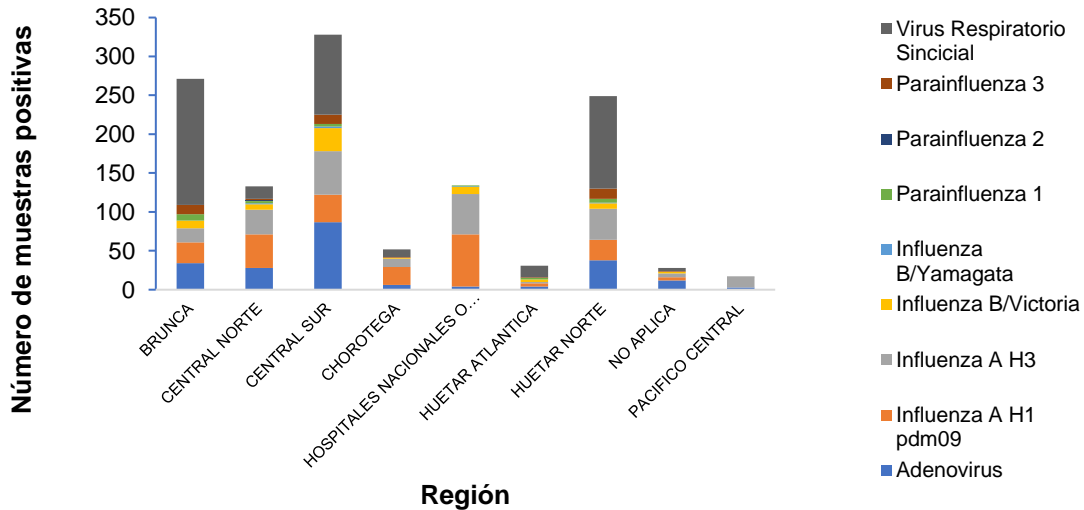


Figura 3. Distribución de virus Influenza y otros virus respiratorios en vigilancia según región de salud de la CCSS. CNI-CNRV-Inciensa. 2019

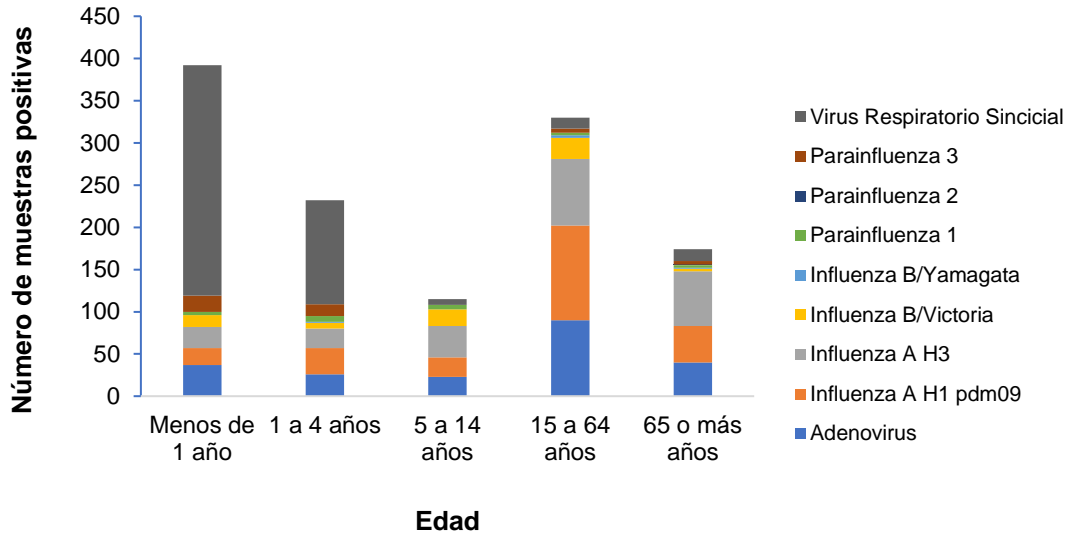


Figura 4. Distribución de virus Influenza y otros virus respiratorios en vigilancia según grupo etario. CNI-CNRV-Inciensa. 2019

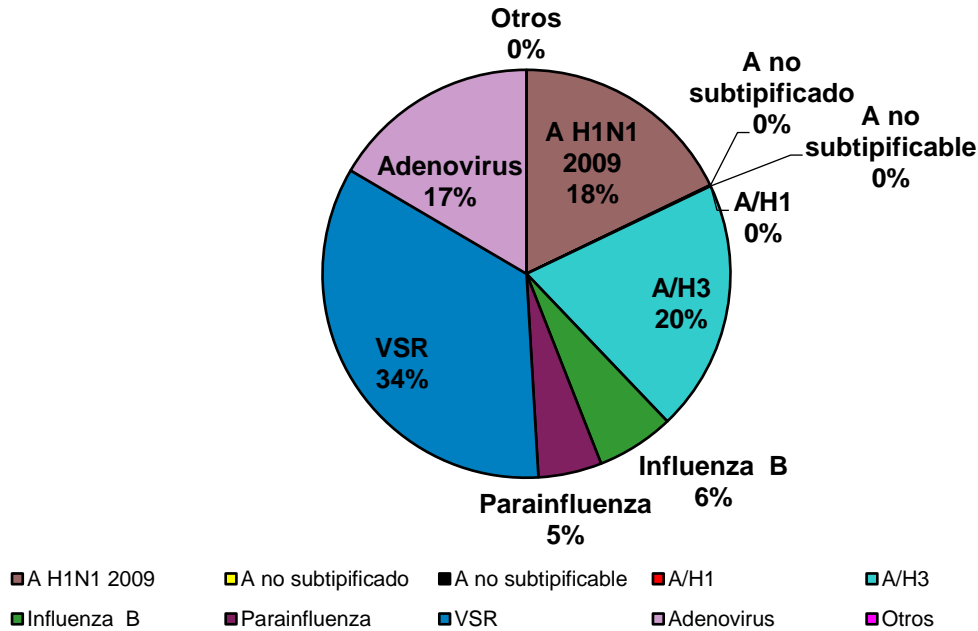


Figura 5. Proporción acumulada de los virus Influenza y otros virus respiratorios. CNI-CNRV-Inciensa. 2019

Caracterización de virus Influenza circulantes en Costa Rica en 2019

Durante el año 2019, el CNI de Costa Rica hizo un total de 2 envíos al CC-OMS ubicado en el CDC de Atlanta, Georgia, EEUU para su caracterización genotípica y fenotípica, como parte de nuestra función al ser miembro del Sistema de Vigilancia y Respuesta Global de Influenza (GISRS, por sus siglas en inglés). El primer envío se hizo en enero con muestras que fueron recolectadas en noviembre y diciembre de 2018, y el segundo envío se hizo en agosto con muestras que fueron recolectadas en junio y julio de 2019. En total, fueron 50 muestras las que se compartieron con el CDC en 2019. Es importante mencionar que no todas las muestras enviadas fueron caracterizadas fenotípicamente, aunque sí son todas caracterizadas genotípicamente.

Caracterización fenotípica

La caracterización fenotípica se hace en primera instancia utilizando, en los virus aislados en cultivo celular a partir de las muestras enviadas, anti-sueros - contra virus de referencia de Influenza- hechos en hurones para conocer con cuál de estos virus se presenta mayor semejanza. Por tanto, en el cuadro 1 es posible apreciar el virus de referencia que se asemeja a los virus enviados por el CNI al CDC en 2019. Para el caso de las muestras enviadas en agosto, seis de los virus caracterizados fueron similares a A/Switzerland/8060/2017, mientras que uno fue similar a A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016. Para todos los demás casos, todos los virus caracterizados fueron similares a solamente a un virus de referencia. Esta es por tanto una caracterización antigénica.

En cuanto a los virus Influenza B mostrados en el cuadro 1, es importante mencionar que en enero de 2019 no se enviaron muestras de Influenza B, y si bien es cierto, en agosto se enviaron muestras de Influenza B/Yamagata, las mismas no se pudieron recuperar con el fin de hacer la caracterización fenotípica. Por lo anterior es que en el cuadro solamente aparecen resultados para Influenza B/Victoria enviadas en 2019.

Cuadro 1. Caracterización fenotípica de muestras enviadas al CDC en 2019

Virus Influenza	Muestras enviadas en enero de 2019	Muestras enviadas en agosto de 2019
Influenza A(H1N1)pdm09	Semejantes a A/Michigan/45/2015	Semejantes a A/Michigan/45/2015
Influenza A(H3N2)	Semejantes a A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	Semejantes a A/Switzerland/8060/2017
		Semejantes a A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016
Influenza B/Victoria	No aplica	Semejantes a B/Colorado/06/2017

Al comparar el cuadro 1 con el cuadro 2 se puede afirmar que los virus circulantes en Costa Rica durante 2019 coincidieron con la recomendación de la vacuna para ese año, lo que indica una buena cobertura de la vacuna aplicada ese año en Costa Rica, al menos desde el punto de vista antigénico.

En segunda instancia, la caracterización fenotípica consiste en evaluar la susceptibilidad a inhibidores de neuraminidasa de los virus aislados en cultivo celular a partir de las muestras enviadas por el CNI, más específicamente oseltamivir, zanamivir, peramivir y lanamivir. Todas las muestras enviadas en 2019 presentaron una susceptibilidad normal a estos antivirales.

Caracterización genotípica

Además de la caracterización fenotípica hecha por el CDC, también hicieron la caracterización genotípica mediante la secuenciación de todos los genes de los virus Influenza enviados, y tales secuencias son depositadas en la base pública de datos genéticos llamada GISAID. A pesar de que todas las muestras enviadas fueron secuenciadas, no todas se colocan en los análisis filogenéticos de las figuras 6, 7 y 8. Probablemente el análisis de las relaciones evolutivas del gen de la HA represente el mayor valor, puesto que esta proteína corresponde al componente del virus para el que se desarrolla una respuesta inmune adaptativa en mayor medida, derivada ya sea de

infecciones previas o de vacunación, así que los cambios en la misma podrían tener un impacto importante sobre la salud pública.

El análisis filogenético de del gen de HA de Influenza A(H1N1)pdm09 recolectados a nivel mundial desde 2018 demuestran que casi todos pertenecen al clado genético 6B.1A. Se ha observado considerable diversidad genética en la hemaglutinina dentro de los virus del clado 6B.1A: varios subclados con la misma sustitución en el residuo S183P de la hemaglutinina han emergido por evolución paralela y continúan co-circulando (se agrupan por tanto en el clado 6B.1A+S183P). Y por lo anterior, un virus del clado 6B.1A+S183P fue recomendado para el componente A(H1N1)pdm09 de la vacuna de la temporada 2020 del hemisferio sur. Como se observa en la figura 6, todos los virus A(H1N1)pdm09 de Costa Rica caracterizados por el CDC pertenecen al clado 6B.1A+S183P, subclados 5A y 5B, siendo el subclado 5A el dominante a nivel global desde 2019.

El análisis filogenético del gen de la HA de virus Influenza A(H3N2) recolectados desde 2018 demuestran que pertenecen a dos grandes clados genéticos: 3C.3a y 3C.2a, dentro de los que se encuentran los virus Influenza caracterizados de Costa Rica, tal y como se observa en la figura 7. La recomendación de la vacuna para la temporada de 2019 del hemisferio sur corresponde a un virus del clado 3C.2a1.

El análisis filogenético del gen de la HA de virus Influenza B/Victoria recolectados desde 2018 pertenecen al clado V1A, dentro del que se encuentran los virus V1A.1, anteriormente denominados *V1A-2DeI* por tener dos deleciones de aminoácidos en las posiciones K162 y N163. La recomendación de la OMS para la vacuna de influenza de la temporada 2019 del hemisferio sur incluye un virus B/Victoria del clado V1A.1, mismo al que pertenecen los virus de Costa Rica caracterizados por el CDC.

Legend

LR – Low Reactor
 OR – Original Clinical Material
 egg – Egg Grown Isolate
 HRI – High Reduced Inhibition
 to Neuraminidase Inhibitors

VACCINE 2019–20 NH
 VACCINE 2020 SH
 A/Brisbane/02/2018
 A/Idaho/07/2018

VACCINE 2020–21 NH
 A/Guangdong–Maonan/SWL1536/2019
 A/Hawaii/70/2019

Genetic Clade
 (6B.1A+S183P subclades 1–7)

- 6B.1A
- 1
- 2
- △ 3
- + 4
- × 5A
- ◇ 5A+187A+189E
- ∞ 5B
- * 6
- ⊕ 7
- ⊗ 6B.1
- 6B.2
- ◆ CA/07–LIKE

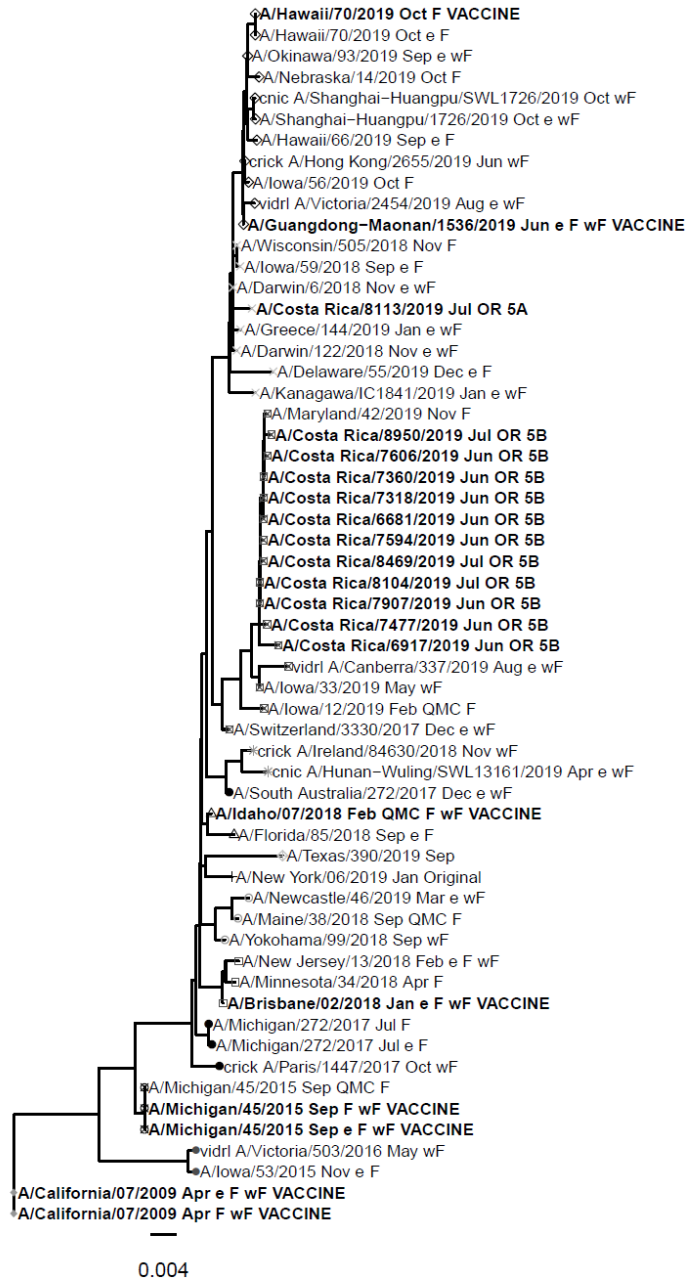


Figura 6. Árbol filogenético para la hemaglutinina de los virus Influenza A(H1N1)pdm09 enviados al CDC. Se usan diferentes símbolos para representar los subclados del gen de la HA. Los virus de muestras enviadas por Costa Rica están en negrita, así como virus de vacunas previas y actuales, que incluyen las de 2019 y 2020 para el HS. Los virus A(H1N1)pmd09 de Costa Rica se ubican en el clado 6B.1A+S183P, encontrándose la mayoría en el subclado 5B, y uno en el subclado 5A. Las recomendaciones de vacuna para el 2019 HS se pueden encontrar en el cuadro 2. Fuente: Centro Colaborador de la OMS en el CDC.

Legend

LR – Low Reactor
 OR – Original Clinical Material
 egg – Egg Grown Isolate
 HRI – High Reduced Inhibition
 to Neuraminidase Inhibitors

VACCINE 2019–20 NH
 A/Kansas/14/2017

VACCINE 2020 SH
 A/South Australia/34/2019
 A/Iowa/60/2018

VACCINE 2020–21 NH
 A/Hong Kong/2671/2019
 A/Hong Kong/45/2019

Genetic Clade

- 1
- 2a
- ◆ 2b
- ▣ 2a1
- * 2a1a
- ⊕ 2a1b
- 2a1b+131K
- 2a1b+135K
- ▣ 2a1b+135K+137F
- 2a1b+135N
- △ 2a2
- + 2a3
- × 2a4
- 3a

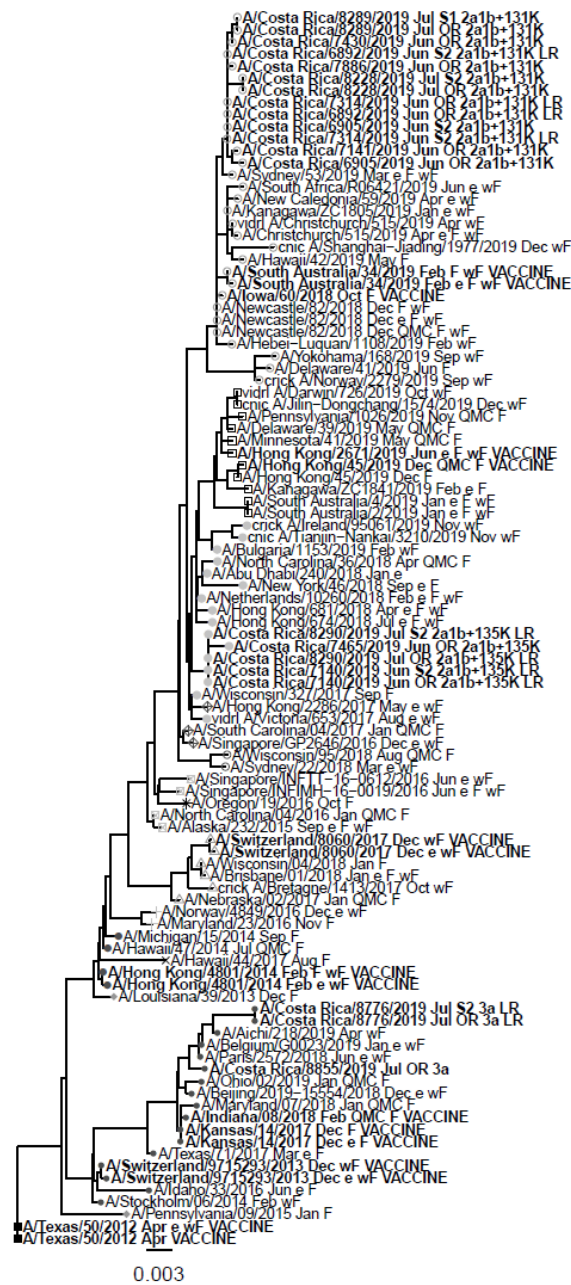


Figura 7. Árbol filogenético para la hemaglutinina de los virus Influenza A(H3N2) enviados al CDC. Se usan diferentes símbolos para representar los clados del gen de la HA. Los virus de muestras enviadas por Costa Rica están en negrita, así como virus de vacunas previas y actuales, que incluyen las de 2019 y 2020 para el HS. La mayoría de los virus A(H3N2) de Costa Rica se ubican en el clado 3C.2a, subclados 3C.2a1b+131K, 3C.2a1b+135K, mientras que unos cuantos se ubican en el clado 3C.3a. Las recomendaciones de vacuna para el 2019 HS se pueden encontrar en el cuadro 2. Fuente: Centro Colaborador de la OMS en el CDC.

Legend

LR – Low Reactor
 OR – Original Clinical Material
 egg – Egg Grown Isolate
 HRI – High Reduced Inhibition
 to Neuraminidase Inhibitors

VACCINE 2019–20 NH
 B/Colorado/06/2017

VACCINE 2020 SH
 VACCINE 2020–21 NH
 B/Washington/02/2019

Genetic Clade

- V1A
- × V1B
- ♦ V1A.1
- * V1A.2
- V1A.3

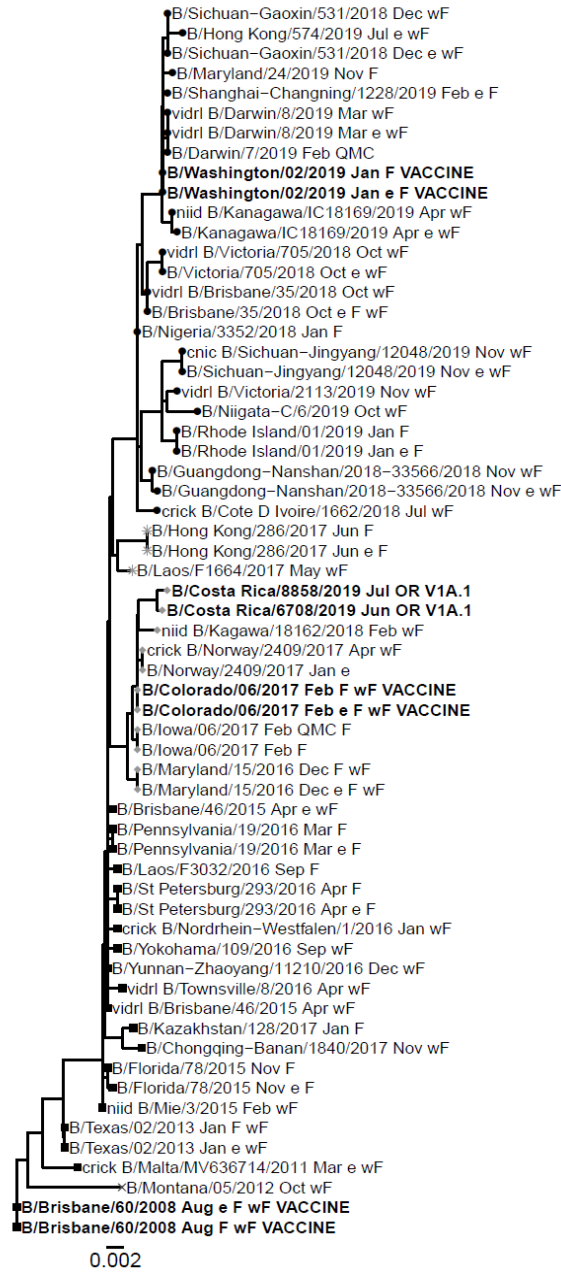


Figura 8. Árbol filogenético para la hemaglutinina de los virus Influenza B/Victoria enviados al CDC. Se usan diferentes símbolos para representar los clados del gen de la HA. Los virus de muestras enviadas por Costa Rica están en negrita, así como virus de vacunas previas y actuales, que incluyen las de 2019 y 2020 para el HS. Los virus B/Victoria de Costa Rica se ubican en el clado V1A.1. Las recomendaciones de vacuna para el 2019 HS se pueden encontrar en el cuadro 2. Fuente: Centro Colaborador de la OMS en el CDC.

Recomendaciones para la composición de la vacuna de influenza

La información derivada de las muestras compartidas por los CNI con los CC-OMS contribuye a la elección de las cepas del virus Influenza que la OMS recomienda incluir en la vacuna que se administra anualmente. Para ello, todos los CC-OMS se reúnen dos veces al año (estas reuniones se conocen como “Vaccine Consultation Meeting” o VCM) con la información obtenida a partir de las muestras compartidas por todos los CNI, y se llevan a cabo en febrero para la recomendación de la vacuna por ser usada en el hemisferio norte, y en noviembre para la recomendación de la vacuna por ser usada en el hemisferio sur. La información compartida por cada CC-OMS incluye la caracterización fenotípica de los virus recibidos, misma que permite determinar las características antigénicas, y la caracterización genotípica, que permite establecer patrones de evolución genéticos. Al analizar estos resultados en conjunto, se pretende de cierta manera predecir cuáles virus que van a circular en las próximas temporadas de influenza, y que por tanto deberían incluirse en las recomendaciones de composición de la vacuna. Estas reuniones se hacen con el suficiente tiempo de anticipación de tal manera que las compañías farmacéuticas tengan el suficiente tiempo para hacer la formulación y la producción de la vacuna, y poder administrarlas antes de la aparición de las temporadas de influenza en cada uno de los hemisferios.

Costa Rica utiliza la recomendación de vacuna cuadrivalente hecha en huevo correspondiente a la temporada de influenza del hemisferio sur, que para el 2019 y 2020 corresponde a la composición que se detalla en el cuadro 2.

Cuadro 2. Recomendaciones para la composición de la vacuna de Influenza

Temporada de Influenza	A(H1N1)pdm09	A(H3N2)	B/Yamagata	B/Victoria
2019 HS	A/Michigan/45/2015	A/Switzerland/8060/2017 ^E A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 ^C	B/Phuket/3073/2013 ^Q	B/Colorado/06/2017 ^{T&Q}
2020 HS	A/Idaho/07/2018 ^C A/Brisbane/02/2018 ^E	A/Iowa/60/2018 ^C A/South Australia/34/2019 ^E	B/Phuket/3073/2013 ^Q	B/Washington/02/2019 ^{T&Q}

(HS) hemisferio sur; (E) para vacunas hechas en huevo; (C) para vacunas hechas en cultivo celular; (Q) para vacunas cuadrivalentes; (T) para vacunas trivalentes.

Consideraciones finales

A pesar de la situación actual derivada de la pandemia por COVID-19, es de la mayor importancia tomar muestras respiratorias a pacientes que cumplan la definición de caso de ETI e IRAG y hacer la detección del virus Influenza, cuando corresponda de acuerdo con lo estipulado en el Protocolo Nacional para la Vigilancia de Influenza y otras Virosis Respiratorias.

En vista que los análisis que se hagan dependen de la buena calidad de los datos, no se debe pasar por alto el adecuado llenado de la boleta de diagnóstico Inciensa-R85, puesto que la misma incluye variables que han demostrado ser críticas en la vigilancia epidemiológica basada en el laboratorio.

Para el primer semestre del 2020, la detección de virus respiratorios se encuentra descentralizada en la red de laboratorios de la CCSS, por lo que para mantener actualizados los datos reales de vigilancia de estos eventos, se debe hacer uso del sistema PAHOFlu, tanto para introducir los datos de los pacientes a los que se les toma muestra, como para introducir los resultados de laboratorio de las pruebas hechas. Este sistema hace análisis en tiempo real que integran estos datos, y permite visualizar a nivel central el comportamiento de estos eventos, importantes en salud pública.

Dentro del esquema de descentralización de la detección de virus Influenza por RT-PCR, todos los laboratorios deben compartir con el CNRV-Inciensa las muestras de los pacientes que sean diagnosticados por influenza, tanto para caracterización por RT-PCR del virus en el centro nacional de referencia, como para que, como CNI, evalúe la posibilidad de compartirlas con el CDC en aras de obtener información que además de incluir datos fenotípicos y genotípicos de los virus Influenza circulantes en Costa Rica, permitirá hacer una formulación de la vacuna más acorde con el comportamiento del virus en nuestra región.