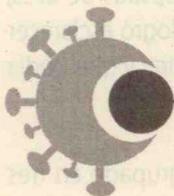


Los virus de influenza y la influenza aviar



Ana E. Arango R, Bact. MSc. Profesora Jubilada,
U de Antioquia.

A lo largo de la historia, la influenza se ha venido presentando regularmente en forma de brotes epidémicos y en algunas ocasiones, afortunadamente unas pocas, como pandemias, la forma de ataque más temida. En el pasado siglo XX se pudieron documentar y describir claramente 3 grandes pandemias, y se temió mucho por la posibilidad de una cuarta que finalmente no ocurrió, pues solo se presentó un brote epidémico con unos cuantos miles de casos. Para poder entender el temor que genera la sola mención de la palabra pandemia, debemos repasar un poco esa historia. La primera gran pandemia viral descrita, es la conocida como la "dama española" (1918-19) o influenza española que se produjo en una época de crisis asociada a la primera guerra mundial. En esta ocasión se presentaron cerca de 50 millones de muertes, lo que ubica a la Influenza en el primer lugar entre las enfermedades infecciosas más letales; aún más grave que la peste, que diezmó los continentes europeo y asiático en los siglos VI, XIV y XIX, mortífero y aún ¡más que la primera guerra mundial!

¿Qué hizo que este virus adquiriera dicha capacidad devastadora? Tal vez las condiciones mismas del estrés de la guerra fueron factores importantes que contribuyeron a la diseminación y a la agresividad de la infección; o quizás, el virus mismo tenía en su genoma la característica de una virulencia hasta entonces desconocida. Aún no se tiene la respuesta pero los investigadores trabajan intensamente para aclarar este dilema, ya que esta información podría facilitar la comprensión necesaria para afrontar con mejores herramientas, la presencia de una nueva amenaza pandémica.



Los virus de Influenza

En 1933 se aisló por primera vez, en hurones, un virus de influenza a partir de muestras de pacientes humanos y en 1941, la Dra. Hirst descubrió por casualidad, el fenómeno de la hemaglutinación, cuando trabajaba con embriones de pollo y virus de influenza. Desde, 1902, se había aislado el virus de la peste aviaria a partir de muestras de aves, pero se desconocía su relación con el virus de influenza; esto solo se logró esclarecer en 1955, cuando Schafer describió que se trataba del mismo agente viral y que podía infectar tanto al hombre, como a los animales.

Estos virus son miembros de la familia *Orthomyxoviridae*, y se han agrupado en tres géneros: *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B*, e *Influenzavirus C*. Por su patogenicidad, se destacan los géneros A y B, ya que el C solo produce manifestaciones leves, como resfriado común, y carecen de importancia como patógenos humanos. Los virus del género B infectan al hombre y ocasionalmente a algunos animales y están asociados con epidemias periódicas, con mortalidad importante, pero no producen pandemias. El cuadro clínico es indistinguible del producido por los virus del género A, aunque suele ser un poco menos severo.

Las partículas virales tienen un tamaño aproximado de 80-120 nm, con una morfología esférica o pleomórfica, y una nucleocápside helicoidal. El genoma de los *Influenzavirus* está constituido por un RNA de cadena sencilla y polaridad negativa (RNA⁻), segmentado en 8 fragmentos, excepto los del género C, que solo tiene 7. Cada fragmento codifica por una sola proteína, a excepción del 7 y el 8 que codifican por 2 proteínas cada uno (ver tabla 1). Estos virus tienen envoltura con proyecciones glicoproteicas de dos tipos: la hemaglutinina (HA ó H) y la neuraminidasa (NA ó N), que son codificadas por el genoma viral (fragmentos 4 y 6 respectivamente), y constituyen los principales antígenos virales responsables de inducir la respuesta inmune protectora. Probablemente también constituyen un factor de virulencia ya que, dependiendo del tipo de HA y NA, la cepa viral es más o menos agresiva. Hasta el momento se han descrito y secuenciado 16 tipos de HA y 9 de NA, presentes en virus aviares, en diferentes combinaciones. El hombre puede ser infectado por virus que presentan algunas de estas combinaciones pero, en condiciones naturales, solo se han descrito infecciones por virus H1-H3 y N1-N2. Otros mamíferos o aves, pueden ser infectados por virus que poseen éstas y otras combinaciones de HA y NA.

Tabla 1. Virus de influenza: Componentes y sus funciones

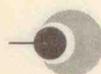
Fragmento	Proteína	Función
1	PB2	Componente de la polimerasa
2	PB1	Componente de la polimerasa
3	PA	Componente de la polimerasa
4	HA	Hemaglutinina, proteína viral de adherencia, fusión, blanco de los anticuerpos neutralizantes.
5	NP	Nucleoproteína
6	NA	Neuraminidasa, enzima sialidasa, promueve la liberación del virus, actúa sobre el ácido siálico.
7	M1	Proteína de matriz, estructural, promueve el ensamblaje del virus
	M2	Proteína de membrana que forma canales iónicos, blanco de antivirales, facilita el desnudamiento viral
8	NS1	Proteína no estructural que inhibe la traducción del RNAm celular
	NS2	Proteína no estructural de función desconocida.

Inmediatamente por debajo de la envoltura viral se encuentra la proteína de membrana o de matriz (M1). Esta constituye el 35-45% de la masa de la partícula viral y su función está estrechamente asociada con el ensamblaje, la maduración y liberación del virus de la célula infectada. En la envoltura viral también se encuentra la proteína M2 que al parecer funciona como un canal iónico, favorece la acidificación del endosoma y facilita el desnudamiento del virus. Tanto M1 como M2, son codificadas por el fragmento 7.

Cada uno de los 8 fragmentos se encuentra estrechamente asociado con una nucleoproteína (NP) derivada del fragmento 5, y tres subunidades de la polimerasa viral (PA, PB1 y PB2) codificadas por los fragmentos 1, 2, 3. El conjunto de todos ellos conforma la ribonucleoproteína (RNP) responsable de la replicación viral.

El fragmento 8, codifica por la proteína no estructural NS que se encuentra como NS1 y NS2, pero su función aún no está muy bien definida. NS2 parece jugar un papel en la salida de RNP del núcleo, mientras que NS1 posiblemente es la responsable de inhibir la actividad del interferón (IFN), pues se ha demostrado que virus sin NS1, son viables, pero no crecen bien en células productoras de INF.

Los virus de influenza tipo A son los responsables de epidemias y pandemias; por tanto, estos virus tipo A serán el objetivo de este capítulo; pero, cuando sea pertinente, se mencionará alguno de los otros dos tipos virales.



Hemaglutinina (HA)

Este antígeno viral es el principal determinante del tipo de hospederos que puede infectar el virus, ya que es a través de la HA que el virus se adhiere a su receptor en la célula susceptible. La HA viral es un trímero conformado por parejas de subunidades HA1 y HA2, que se unen entre sí por puentes o enlaces disulfuro. Cada partícula viral puede tener cerca de 1000 copias de estas glicoproteínas en su superficie, las cuales se encuentran ancladas en la envoltura mediante dominios hidrofóbicos.

La especificidad de los receptores celulares varía con la especie animal de la cual proviene el virus. En general, el receptor para influenzavirus es una molécula de azúcar (galactosa o semejante) unida al ácido N-acetil neuramínico o ácido siálico. Los influenzavirus que infectan humanos reconocen específicamente el receptor con enlace N-acetil neuramínico- α 2-6 galactosa y los virus aviares y equinos prefieren moléculas con enlace N-acetil neuramínico- α 2-3 galactosa. A su vez, el tracto respiratorio humano tiene en forma predominante (pero no exclusiva) el tipo N-acetil neuramínico- α 2-6 galactosa; mientras que en aves y equinos, predomina el N-acetil neuramínico- α 2-3 galactosa. Recientemente se reportó la presencia de enlaces N-acetil neuramínico- α 2-3 galactosa en la conjuntiva del ojo humano, por lo que se cree que ésta podría ser una vía de entrada de influenzavirus de origen aviar.

Hasta 1997 se creía que era imposible que un virus aviar infectara directamente al humano, pues se creía que debía pasar primero por el cerdo, que se ha denominado "recipiente de mezcla" para los virus de influenza; esto se explicaría por la presencia, en igual proporción, de los dos tipos de receptores, el humano y el aviar-equino, en el tracto respiratorio porcino, y por tanto, el virus aviar necesitaría un paso de adaptación antes de adquirir la capacidad para infectar al humano. Pero se demostró que un virus aviar, específicamente un tipo A (H5N1) infectó en forma directa, a 18 personas -de las cuales murieron 6- a partir de aves de corral infectadas.

Para que un virus de influenza A pueda infectar una célula, es necesario que su HA que se encuentra como precursor HA0 en el virus, sea clivada en HA1 y HA2. Esto ocurre por acción de enzimas del hospedero y es dependiente del tipo de aminoácidos presentes en el sitio de clivaje. En general, los virus humanos tienen una arginina en el sitio de clivaje y solamente enzimas como la tripsina o semejantes y la plasmina, son capaces de reconocer dicho sitio. Algunas proteasas bacterianas también son capaces de realizar esta función.

Lo anterior, es muy importante para explicar por qué la infección viral se limita al tracto respiratorio y al tracto digestivo, pues son éstos los únicos sitios donde se encuentran disponibles dichas enzimas. Sin embargo, algunas cepas virales de influenza consideradas de "alta patogenicidad" (HPAI) como las H5 y H7, presentan aminoácidos básicos, como arginina y lisina, lo que facilita el clivaje por otras endoproteasas del hospedero, y de esta

manera se amplían las posibilidades de infección a otros tejidos. Entre las endoproteasas que permiten infectar otros tejidos se encuentran las relacionadas con la subtilisina, la furina y la PC6 que son dependientes de calcio y de condiciones específicas de pH. Dado que estas endoproteasas se encuentran ampliamente distribuidas en el organismo, es posible que esto facilite que los virus de "alta patogenicidad" infecten diferentes órganos.

La clasificación de los influenzavirus en cepas de alta y baja patogenicidad (HPAI y LPAI respectivamente), se basa en la presencia de varios aminoácidos básicos en el sitio de clivaje; es decir, la presencia de dichos aminoácidos se convierten en factor de virulencia. Hasta la fecha, solo se consideran de alta patogenicidad las cepas H5 y H7 por su gran virulencia para las aves de corral en las que la mortalidad puede alcanzar el 100% en un corto período de tiempo. Estas mismas cepas son las que han logrado infectar directamente al humano produciendo enfermedad severa y muerte en un porcentaje apreciable de los casos. Solo en dos oportunidades se ha demostrado que cepas H9 consideradas de baja patogenicidad, hayan logrado pasar al humano, pero no se consideran como de alta patogenicidad ya que no producen gran mortalidad en las aves. No siempre las cepas H5 y H7 se comportan como de alta patogenicidad; es posible que se manifiesten como de baja patogenicidad, sin producir la muerte de las aves comprometidas, pero eventualmente pueden mutar y producir alta mortalidad.

Por tratarse de virus RNA con la característica adicional de presentar un genoma segmentado, la transcriptasa viral no es capaz de corregir los errores que comete durante la replicación; esto se traduce en mutaciones que pueden ser significativas o no; pero la acumulación de las mismas, conlleva a que el virus adquiera características diferentes en cada ciclo replicativo. Cuando los cambios acumulados conducen a características suficientemente diferentes, se considera que ha emergido una nueva cepa viral. Sin embargo, en algunas ocasiones, el cambio de un aminoácido, por ejemplo en las posiciones 226 o 228 de la HA, puede resultar en un aumento de afinidad para el receptor humano –en vez del aviar– con las consecuencias previsibles.

Neuraminidasa (NA)

Es una enzima tipo sialidasa, codificada por el segmento 6 del RNA y su estructura es un tetrámero que semeja un hongo. Al igual que la HA, es antigénicamente variable y también tiene cierta especificidad por los receptores celulares. Se han descrito 9 NA, de las cuales solo la 1 y la 2 se encuentran en los virus de influenza que afectan al ser humano. Aunque su función no está completamente dilucidada, tiene que ver con la hidrólisis de los residuos de ácido siálico y, por lo tanto, modifica o altera el receptor celular durante la adsorción del virus. Adicionalmente tiene un papel importante durante la liberación de las partículas virales, ya que impide que se formen agregados de partículas virales que podrían adherirse a la membrana celular, dada la afinidad



por el ácido siálico. La NA también contribuye a licuar el moco del aparato respiratorio, permitiendo así la llegada del virus a la célula y la diseminación hacia sitios más profundos del árbol bronquial.

Aunque en menor proporción que la HA, la NA también juega un papel en la selección del rango de hospederos del virus. Así, un virus con todos sus fragmentos de origen aviar, excepto el fragmento que codifica para la NA, no puede infectar una célula aviar en cultivo.

Ciclo de vida y replicación viral

Luego de la unión de la HA con el ácido siálico, el virus penetra a la célula por endocitosis mediada por receptores. Luego, el endosoma es acidificado y esto provoca cambios conformacionales en la HA, favorece la fusión de la envoltura viral con la membrana del endosoma, y da lugar a la liberación de los fragmentos de RNA en el citoplasma de la célula. El RNA viaja hacia el núcleo y se inicia el proceso de replicación viral. Aunque el proceso de replicación no está totalmente esclarecido, se han descrito una serie de pasos que se exponen a continuación.

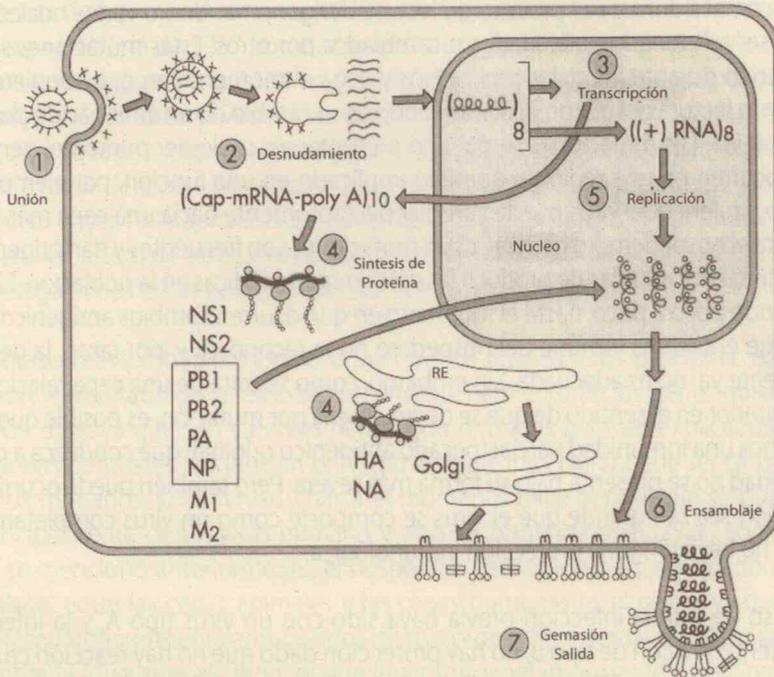
Puesto que el genoma de los miembros de la familia *Orthomyxoviridae* está constituido por RNA (-) se requiere un paso previo, antes de sintetizar el RNAm. Dado que la célula no tiene mecanismos para hacer un RNAm a partir de un RNA(-), es necesario que el virus lleve consigo su propia replicasa. A diferencia de otros virus RNA(-), estos realizan un paso adicional en el núcleo de la célula y luego migran al citoplasma para terminar el proceso de replicación. Cuando el RNA(-) alcanza el núcleo, se inicia inmediatamente la producción de copias de RNA de polaridad positiva (RNA(+)) que constituyen el RNAm. Los RNAm virales, al igual que los RNAm celulares, presentan un 5' cap y una cola poliadenilada (poli A). La replicasa viral corta y secuestra los caps de los RNAm celulares y los añade a los RNAs virales. Igualmente, la replicasa añade las colas poliA después de copiar la hebra RNA. Al final, estas copias lucen como un RNAm verdadero para la célula y son reconocidos y traducidos por los ribosomas (figura 1).

Como las proteínas virales deben migrar hacia sitios específicos de la célula, los virus han desarrollado un mecanismo que les permite pegar una pequeña señal peptídica, que hace que la proteína migre hacia el sitio requerido. Dependiendo de la señal, la proteína puede migrar hacia el retículo endoplásmico, al núcleo o al aparato de Golgi. A medida que las proteínas migran hacia estos sitios, las proteínas van madurando. Por ejemplo, HA y NA sufren glicosilación durante su paso por el aparato de Golgi y finalmente se anclan en la membrana celular. Las proteínas involucradas en la replicación, migran nuevamente al núcleo para sintetizar un RNA(-) a partir de los RNA(+).

La proteína M1 se encarga de controlar el momento en el cual se debe iniciar el empaquetamiento del RNA y de las proteínas para formar las nucleocápsides, que luego por acción de la M1 y la NS2, son exportadas hacia la membrana celular. Estas nucleocáp-

sides convergen en los sitios en donde se encuentran ancladas HA, NA y M2; una vez allí, se ensamblan y salen de la célula por gemación. Durante el ensamblaje pueden presentarse errores ya que es necesario empacar 8 diferentes fragmentos dentro de cada virión y a veces ocurre que falta alguno de ellos; así se producen así las llamadas "partículas defectivas" que no son infecciosas.

Figura 1. Ciclo replicativo del virus de influenza



Tomado de: Medical Microbiology, 4th ed., Murray, Rosenthal, Kobayashi & Pfaller, Mosby Inc., 2002, Figure 56-2.)

En el caso de que dos virus diferentes infecten simultáneamente la misma célula, es posible que se empaque una mezcla de fragmentos de los dos virus y como resultado se origine un nuevo tipo, con una capacidad patogénica desconocida. Se calcula que durante una infección dual, se producen 256 virus diferentes por las combinaciones que podrían dar de sus fragmentos de genoma. Afortunadamente, no todos estos virus son infecciosos y aquellos que lo son, pueden no ser muy virulentos. Sin embargo, éste parece ser uno de los mecanismos por los cuales un virus X adquiere la capacidad de transmitirse exitosamente entre humanos, o alguna propiedad que le confiere una mayor patogenicidad.

Variabilidad de los virus de influenza

Cambio menor o deriva antigénica (drift).

Los influenzavirus se cuentan entre los virus con mayor variabilidad debido, en primer lugar, a su genoma RNA con una polimerasa viral que no corrige errores y, en segundo lugar, a la segmentación del genoma. Una de estas variaciones es el cambio menor o deriva antigénica (drift, en Inglés). Los cambios menores ocurren durante el ciclo replicativo ya que la RNA polimerasa dependiente de RNA no es capaz de corregir los errores que comete durante el proceso de lectura del genoma. Uno o varios nucleótidos pueden ser adicionados, eliminados o cambiados por otros. Estas mutaciones se van acumulando durante los ciclos replicativos y llega el momento en que adquieren un efecto en la lectura del genoma, ocasionando así el cambio de un aminoácido por otro en la proteína. Las mutaciones se pueden presentar en cualquier punto del genoma, pero si ocurren en una región o dominio implicado en una función, por ejemplo un factor de virulencia, el virus puede cambiar peligrosamente hacia una cepa más patógena para el hospedero. En general, estas mutaciones son frecuentes y dan origen a las nuevas cepas encargadas de producir las epidemias periódicas en la población. El virus va mutando poco a poco, hasta el momento en que ocurren cambios antigénicos que hacen que el sistema inmune del hospedero no lo reconozca y, por tanto, la defensa preexistente ya no es adecuada. Sin embargo, como se trata de una cepa relacionada con la anterior en el sentido de que se deriva de ella por mutación, es posible que exista al menos una inmunidad parcial (pecado antigénico original) que conduzca a que la enfermedad no se presente bajo su forma más severa. Pero también puede ocurrir que la variación sea tan grande que el virus se comporte como un virus completamente nuevo y no haya ninguna protección inmunológica.

En el caso de que la infección previa haya sido con un virus tipo A, y la infección subsiguiente sea con de tipo B, no hay protección dado que no hay reacción cruzada entre tipos virales. La RNP es específica para cada tipo viral y los anticuerpos que se desarrollan contra ella no son protectores. La reacción cruzada se presenta entre virus del mismo tipo (A o B) y cepas relacionadas en la HA y NA; por ejemplo, entre varias cepas A(H3N2).

La epidemiología de la influenza muestra que las epidemias por el tipo A se presentan en la comunidad cada 2-3 años y por el tipo B, cada 3-6 años; tiempo necesario para que la inmunidad de la población disminuya significativamente, hasta que se acumulen nuevos individuos susceptibles y se acumulen también las mutaciones necesarias para que el virus cambie antigénicamente.

Cambio mayor o desviación antigénica, (shift)

Los cambios mayores que conducen a un shift antigénico constituyen la principal variación que se presenta en los virus de influenza, y por lo tanto, los de mayor impacto

en salud humana y animal. Se cree que estos cambios mayores se presentan cada 10-40 años y son los responsables de las grandes pandemias. Este tipo de variación solo se presenta en los virus de influenza del tipo A. Los virus que sufren un cambio mayor, no tienen reacción cruzada con las cepas previas, y consecuentemente, la respuesta inmune de memoria no tiene ningún efecto en la protección contra el nuevo virus. Se trata, pues, de un virus completamente nuevo contra el cual el hospedero carece de anticuerpos que puedan protegerlo o, al menos, modificar la severidad de la enfermedad. Las proteínas virales más susceptibles a estos cambios súbitos son la HA, la NA o ambas; este tipo de modificaciones fue la causa de la pandemia de 1918-19, producida por la cepa H1N1; la de 1957 por la cepa H2N2 y la de 1968 por H3N2. Hacia 1977 circuló nuevamente una cepa H1N1 muy semejante a la responsable de la pandemia de 1918; afortunadamente el virus no se diseminó en forma pandémica, ni fue tan virulento como se temía. Algunos investigadores han sugerido que el origen de este virus fue por escape de algún laboratorio, pues su genoma era prácticamente idéntico al que circuló hasta 1948 aproximadamente, cuando fue remplazado por otra cepa viral. El origen verdadero de estos virus pandémicos permanece aún por aclararse, aunque las investigaciones están permitiendo avanzar en este sentido.

La hipótesis más probable sobre el origen de los nuevos virus pandémicos, es que estos son el resultado de la reasociación o reordenamiento de los genes durante una infección dual, ya que son cambios demasiado drásticos para ser explicados por las mutaciones puntuales. Aunque en principio la doble infección puede ser causada por dos virus humanos, lo observado hasta el momento hace pensar que se puede tratar principalmente de un virus humano y otro de origen animal (aviar, equino etc). Como se mencionó anteriormente, el hospedero del cual se ha sospechado que sea el "eslabón" entre las cepas animales y las cepas humanas es el cerdo, ya que en su tracto respiratorio presenta ambos tipos de receptores. Pero actualmente se sabe que el hombre al igual que el cerdo, puede jugar un papel importante como 'recipiente' de mezcla, puesto que los virus aviares han adquirido la capacidad de infectar directamente al hombre y, entonces, es clara la posibilidad de reasociación entre virus humanos y aviares. Este mecanismo de reordenamiento genético ha sido demostrado en condiciones de laboratorio y los virus allí producidos se han mantenido viables por períodos variables de tiempo. Existe evidencia que muestra que las pandemias de 1957 y del 1968, se originaron por este mecanismo.

Recombinación genética

Aunque este mecanismo de variación genética se ha descrito en los virus, su ocurrencia es escasa. El mecanismo consiste en el intercambio de una región de uno de los fragmentos génicos, por otro pedazo proveniente de otro fragmento diferente del mismo virus. Sin embargo, esta estrategia no parece tener una significancia mayor en la epidemiología de la influenza.



Patogénesis e inmunidad

Las células blanco de la infección por virus de influenza son las células epiteliales ciliadas del tracto respiratorio. Poco tiempo después de iniciada la infección, muchas células mueren y son descamadas a la luz del tracto respiratorio, pero la capa basal del epitelio no es infectada, por lo tanto, algún tiempo después (cerca de 3 a 4 semanas), el epitelio se regenera totalmente. Sin embargo, mientras ocurre la infección aguda, el tracto respiratorio altera los mecanismos de barreras naturales contra la infección como el moco y el barrido ciliar, lo que da lugar a la presentación de infecciones sobregregadas de tipo bacteriano principalmente; esta es la complicación más frecuente en la influenza y son la causa de de neumonías que ocasionan el aumento en la mortalidad observada durante las epidemias. La neumonía viral primaria es poco frecuente en la influenza epidémica, pero su presencia hace el cuadro clínico mucho más grave ya que puede ocasionar la muerte en 24-48 horas. Esta forma clínica parece ser la que predomina en los casos de influenza aviar que se han venido presentando en el mundo recientemente. La HA y la NA son los principales factores de virulencia del virus, pero otras proteínas como P, NP, NS1, también tienen un papel en la producción de las manifestaciones clínicas.

Como se menciono previamente la NA viral facilita la entrada del virus al tracto respiratorio porque disminuye la viscosidad del moco y de esta manera las células ciliadas quedan expuestas directamente a la acción del virus. En forma indirecta, esta licuefacción del moco también permite que el virus sea transportado a sitios más profundos del árbol respiratorio, pudiendo aumentar la severidad de la infección.

En tracto respiratorio se encuentran dos tipos de células importantes en la defensa contra la infección: los macrófagos activados y las células NK o asesinas naturales. Ellas, junto con el interferón gamma, la IL-2 y los linfocitos T CD4+ y CD8+, son los encargados de la recuperación del paciente. La IgA específica es la principal defensa contra la infección, pero la duración de esta inmunidad es corta dado que los virus cambian continuamente.

Con base en el estudio de los pacientes afectados por el virus de influenza aviar H5N1, se ha podido observar que varios días después del inicio de la enfermedad hay aumento de IL-6, IFN- γ , IFN- α , receptor soluble de la IL-2, proteína 1 quimiotáctica de monocitos y proteína 10 inducible por IFN. Más recientemente, en pacientes que fallecieron con influenza, se encontraron niveles más elevados de mediadores inflamatorios como IL-6, IL-8, IL-1 β y proteína 1 quimiotáctica de monocitos. Esto podría explicar las manifestaciones semejantes a una sepsis y la falla multiorgánica observada en muchos de esos pacientes.

Clínica y complicaciones

En promedio, el período de incubación de la influenza varía de 1 a 4 días, aunque se puede extender unos días más. En el caso de la presentación de influenza aviar en los humanos, se ha reportado que el período de incubación es más prolongado, pudiendo llegar hasta 8-17 días.

Es importante diferenciar a la influenza del resfriado común, pues la primera requiere de un mayor cuidado, dado sus posibles complicaciones. La influenza se acompaña de mialgias y dolores generalizados principalmente en espalda y piernas, acompañados de malestar y fiebre alta. En general, la influenza se presenta súbitamente con fiebre que puede alcanzar los 40°C, dolor de garganta, tos no productiva -que luego puede volverse productiva- mialgias generalizadas, dolor de cabeza y malestar general. Frecuentemente, al principio de la enfermedad, los síntomas respiratorios son menos notorios que los sistémicos, pero luego se vuelven prominentes. Muchas veces el paciente puede decir casi con certeza el momento en el cual inició el cuadro clínico de influenza. Todos estos signos y síntomas pueden durar entre 3 y 7 días cuando no hay complicaciones. Posterior a la recuperación del cuadro agudo, puede persistir un cuadro de cansancio o fatiga y tos, por varias semanas adicionales. En casos severos de influenza, puede haber esputo con sangre. Los niños, con mayor frecuencia presenta síntomas gastrointestinales como dolor abdominal, náuseas y vómito, y también pueden presentar convulsiones febriles.

En presencia de una epidemia o brote de influenza, generalmente un cuadro respiratorio agudo de fiebre, tos y malestar general, corresponde a un caso de influenza; el diagnóstico se hace por la clínica; pero en casos aislados es necesario recurrir al laboratorio para hacer un diagnóstico etiológico preciso. Los adultos son infectantes desde un día antes de la iniciación de los síntomas y hasta 5 días después, aproximadamente. Por su parte, los niños y los pacientes inmunodeficientes, pueden excretar el virus por períodos más prolongados.

La mayoría de las complicaciones se presentan en los mayores de 65 años, o en los muy jóvenes; también en aquellos que tienen alguna enfermedad crónica subyacente como diabetes, cáncer, EPOC etc. Las más frecuentes incluyen: sinusitis, otitis, exacerbación de EPOC, bronquitis, bronquiolitis, crup (laringotraqueobronquitis). Menos frecuente es la neumonía bacteriana secundaria, que por lo general se presenta entre los días 5 y 10. La neumonía viral primaria aparece entre los días 3 y 5 de la enfermedad y su curso con frecuencia es fatal.

Otras complicaciones no pulmonares, menos frecuentes pero no menos importantes, observadas durante brotes de influenza, incluyen ataques a varios órganos o sistemas



como el muscular (miositis y rbdomiolisis) que afecta a los niños, principalmente; el cardiaco (miocarditis y pericarditis); el nervioso (síndrome de Reye), asociado con la administración de salicilatos en niños y adolescentes menores de 18 años, y la encefalitis (síndrome de Guillain-Barré y mielitis transversa) y sistémicas (síndrome de shock tóxico).

En el caso de la influenza aviar, el cuadro clínico se deriva de la observación de pacientes hospitalizados, ya que no hay reportes sobre el comportamiento clínico en casos leves o subclínicos. Aunque se observa compromiso en todas las edades, hay un predominio de pacientes pediátricos y adultos jóvenes sanos. Muchos de los pacientes inician el cuadro clínico con fiebre alta ($>38^{\circ}\text{C}$) y síntomas de vías respiratorias bajas. Con frecuencia se observa también que se acompaña de diarrea, vómito, dolor abdominal y otros. Estos signos y síntomas aparecen desde el inicio de la enfermedad y pueden progresar rápidamente. Casi la totalidad de los pacientes presenta alguna forma de neumonía clínicamente manifiesta, con alteraciones radiográficas. Los análisis microbiológicos disponibles sugieren que se trata de una neumonía viral primaria sin sobreinfección bacteriana agregada. El progreso hacia insuficiencia respiratoria se ha asociado a la existencia de un síndrome de dificultad respiratoria aguda, con presencia de infiltrados bilaterales, con un patrón de vidrio esmerilado. La mortalidad en estos pacientes es elevada.

Neumonía

La neumonía es una de las complicaciones más frecuente en la influenza y puede ser de dos tipos: primaria viral o secundaria bacteriana. Los pacientes con neumonía viral primaria que es producida por el mismo virus y especialmente por el virus H5N1, manifiestan fiebre con leucocitosis, disnea, hipoxia y cianosis. El estudio bacteriológico del esputo no revela una causa bacteriana. Un porcentaje alto de estos pacientes mueren con un cuadro de neumonía hemorrágica difusa, y el estudio postmortem muestra unos pulmones congestionados, de color rojo oscuro con mucosa de bronquios y tráquea hiperémicas. En la histopatología se confirma la hemorragia, la traqueitis, bronquitis con hemorragias e infiltrado celular y pérdida del epitelio ciliado. Acompañando la hemorragia se observa un exudado de neutrófilos y células mononucleares. Los alvéolos se llenan de exudado fibrinoso con glóbulos rojos, hay formación de membranas hialinas, congestión, infiltración por linfocitos y proliferación de fibroblastos reactivos. Esta forma grave de neumonía no es frecuente pero se ha observado en muchas epidemias de influenza, tanto en personas sanas como en quienes padecen enfermedades crónicas debilitantes, principalmente cardíacas. La presentación de esta forma de influenza fue característica y única de la pandemia de 1918-19; fue la responsable del mayor número de muertes de jóvenes sanos, y es la forma predominante en la influenza aviar que afecta al hombre en algunos países asiáticos actualmente.

La neumonía bacteriana es la forma más común de presentación en la influenza y se presenta cuando el curso de la enfermedad ya ha avanzado un poco; luego de una mejoría inicial del paciente, éste recae nuevamente. Los patógenos bacterianos más frecuentes en este caso son el *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, en orden de frecuencia. Es posible que algunas de estas bacterias provean las proteasas que requiere el virus de influenza para realizar el clivaje de la HA y de esta manera facilitar la infección de la célula, así que la bacteria y el virus se 'favorecen' mutuamente, pues la colonización bacteriana del tracto respiratorio se facilita por la acción de la NA sobre el moco y por la destrucción del epitelio ciliado por la infección viral.

De otra parte, se ha encontrado que el mismo virus de influenza o algunos de sus antígenos, especialmente la HA y NS1 tienen efectos inmunosupresores sobre el hospedero. Como ejemplo, el virus puede infectar los macrófagos y destruirlos, produciendo así, una inmunosupresión que favorece, a su vez, la colonización bacteriana del árbol bronquial y el posterior desarrollo de la neumonía. También se ha descrito que la HA es capaz de bloquear la producción de algunas citocinas como la IL 12, importantes en la respuesta inmune. NS1 tiene entre sus funciones, no muy conocidas todavía, la de bloquear la acción del interferón tipo 1, lo que permite una mayor replicación viral en los pulmones.

Epidemiología

Todas las combinaciones posibles de HA y NA se han descrito en las aves; especialmente en aves acuáticas migratorias, las cuales se consideran el reservorio de los virus de influenza aviar. Como característica importante de estas aves, es que ellas se infectan con el virus, lo replican y lo excretan a través de heces y secreciones respiratorias, pero rara vez padecen la enfermedad, por lo que se constituyen en excelentes diseminadores del virus. Otras aves y animales pueden contaminarse por la ingestión de aguas contaminadas con excretas de estas aves migratorias o por inhalación de pequeñas gotas de agua contaminada o secreciones respiratorias.

La influenza humana estacional se presenta todos los años durante la época de invierno y primavera, en los países templados, o en los meses lluviosos del trópico. La diseminación persona a persona ocurre a través de secreciones respiratorias producidas durante la tos, el estornudo o simplemente al hablar. También se ha observado que las manos juegan un papel en la diseminación, por lo cual el lavado frecuente de manos es una medida preventiva importante.

Las epidemias por virus de influenza A aparecen cada 2-3 años intercalándose con las epidemias por influenza B, que se presentan cada 3-6 años. Por lo general, en una co-



munidad, solo circula un virus de influenza a la vez; pero se han observado brotes con circulación simultánea de virus A y B. Las pandemias solo son producidas por los virus de tipo A y recorren el mundo cada 10-40 años, según se deduce del estudio de las últimas pandemias. Las epidemias de influenza aparecen en forma súbita, alcanzan el pico a las 2-3 semanas y tienen una duración promedio de 5-6 semanas. La severidad de la enfermedad depende en gran medida, de la virulencia de la cepa, de la concordancia entre la cepa circulante y la vacuna aplicada y del número de susceptibles de la población.

Control, prevención y tratamiento

Por el corto período de incubación, por la facilidad de transmisión del virus de influenza y por su infecciosidad, la enfermedad es muy difícil de prevenir y controlar, a no ser que se apliquen estrictamente varias medidas preventivas que incluyen la vacunación, la quimioprofilaxis y en el caso de la influenza aviar, el sacrificio de aves o animales infectados y no infectados del área afectada. En el caso de la influenza humana estacional, la severidad de los síntomas, hacer que el paciente sea sometido a reposo, al menos durante el período agudo de la enfermedad. Muchas veces el reposo acompañado de la ingesta abundante de líquidos y algunos analgésicos y antipiréticos, no derivados de los salicilatos, es suficiente. Cada uno de los síntomas del paciente se trata de acuerdo a su presentación. Se ha observado una asociación entre el uso de salicilatos para disminuir la fiebre y el malestar en las infecciones virales respiratorias, o en la varicela, con la presentación de una grave enfermedad conocida como síndrome de Reye. Esta complicación se manifiesta como una encefalopatía con degeneración grasa del hígado, que ocasiona la muerte en cerca del 40% de los afectados y tiene una mayor incidencia en niños y adolescentes menores de 19 años, por tanto se recomienda evitar el uso de dichos salicilatos en estas personas. Si hay complicaciones, será preciso recurrir a la hospitalización para evitar un agravamiento del cuadro clínico.

En el hombre existen dos alternativas: para el control y tratamiento la quimioprofilaxis, o sea el empleo de sustancias antivirales contra los virus de influenza y la inmunoprofilaxis o vacunación, con alguna de las vacunas existentes.

Quimioprofilaxis

Las primeras drogas antivirales usadas para la influenza, fueron el hidroclorehidrato de amantadina y el hidroclorehidrato de rimantadina, conocidas como amantadina y rimantadina simplemente. Los estudios han demostrado que la amantadina y rimantadina tienen efecto solamente sobre el virus de influenza A y su acción es preventiva, ya que interfieren con el ciclo viral. El mecanismo de acción implica enzimas lisosomales que interfieren con el desnudamiento del virus: este proceso requiere de los canales

iónicos formados por la proteína viral M2 y la disminución del pH del endosoma para que haya una actividad enzimática óptima. La amantadina bloquea los canales iónicos, e inhibe el transporte de la HA y de otras proteínas hacia la superficie de la célula, disminuyendo así la replicación viral. Dado que el virus de la influenza B no tiene proteína M2, estas dos drogas no tienen el mismo efecto sobre este tipo de virus.

Los estudios han demostrado un 70% de protección cuando la amantadina se administra profilácticamente antes de las primeras 48 horas de la infección; también se ha empleado como tratamiento, pero con resultados muy pobres. Se recomienda su utilización en pacientes inmunocomprometidos que, eventualmente, se verán expuestos al virus en las epidemias invernales o en aquellos que no pueden ser vacunados por su conocida hipersensibilidad a las proteínas del huevo, ya que la vacuna se prepara en embrión de pollo. La amantadina tiene efectos secundarios que, con frecuencia son bastante inconvenientes, como náuseas, mareos, convulsiones, ansiedad y otros, que desaparecen una vez cesa la administración del medicamento. La resistencia a la amantadina es un fenómeno bastante frecuente en las cepas virales, por lo que su uso es cada vez más limitado. La rimantadina es muy similar a la amantadina, pero tiene menos efectos secundarios, por lo que es preferida muchas veces, aunque el efecto no es mejor.

El desarrollo de nuevos antivirales ha llevado al descubrimiento de otros compuestos con actividad anti-influenza. Son los conocidos como "inhibidores de la neuraminidasa viral" descritos desde 1996, aproximadamente. La clave para su desarrollo fue la observación de que los anticuerpos contra la neuraminidasa podían bloquear específicamente el virus; además, se conocía la secuencia y estructura de la NA, lo que facilitó crear un compuesto que se asemejara en su acción a lo que sucede in vivo. Uno de estos compuestos fue designado como GG167, el cual mostró su habilidad in vitro para actuar sobre la NA de virus tipo A y B. Comercialmente se les conoce como Oseltamivir y Zanamivir, y se administran vía oral e inhalado, respectivamente. Ambas sustancias son efectivas en un 70-90% cuando se emplean preventivamente, tanto para influenza A como B pero, hasta la fecha, solo está aprobado el oseltamivir para uso profiláctico. Para uso terapéutico se pueden emplear ambas sustancias: el oseltamivir se puede administrar a mayores 1 año, sintomáticos, con menos de 2 días de evolución; el zanamivir está aprobado para mayores 8 años con iguales condiciones clínicas. El tratamiento por lo general es de 5 días, pero en el caso de influenza aviar puede prolongarse unos días más. Hasta el momento, estos dos medicamentos han sido igualmente eficientes contra todos los virus de influenza, pero ya empiezan a aparecer cepas resistentes, aunque en menor proporción que con amantadina y rimantadina.

Vacunas

La OMS ha señalado que "la vacuna de influenza es la medida preventiva disponible más efectiva" ya que se ha demostrado, en el contexto de la vacunación de rutina,



que ella ayuda a prevenir la enfermedad y la muerte, especialmente en los grupos de riesgo. Con respecto a la vacunación en humanos, las autoridades de salud mundial han definido ciertos grupos como prioritarios para vacunación contra influenza, por ser más propensos a presentar complicaciones y muerte. Estos grupos son:

- Los niños entre 6 y 23 meses de edad,
- Los adultos mayores de 65 años,
- Los individuos entre 2 y 64 años que tengan alguna enfermedad crónica y
- Las mujeres embarazadas.

Mundialmente se producen al año unos 350 millones de dosis de vacuna de influenza, lo cual es totalmente insuficiente para proteger una población mundial de aproximadamente 6.000 millones de personas. Obviamente, no a todos se les aplica la vacuna; pero aún así, quedan muchas personas pertenecientes a los grupos definidos de riesgo, sin esta protección. Ese problema se agrava en los países en vías de desarrollo y entre estos en los más pobres. Todas las vacunas para influenza empleadas actualmente son preparadas en embrión de pollo y contienen 15 microgramos de antígeno HA de cada uno de los virus incorporados. Entre el momento de la selección de los virus y la salida de la vacuna al mercado transcurre un período aproximado de 6-8 meses.

Actualmente se dispone de varios tipos de vacunas para influenza: vacunas de virus inactivado completo, vacunas de virus fragmentado con detergentes, vacunas de subunidades del virus especialmente HA y NA, y vacunas de virus vivo atenuado. Las primeras, a virus inactivado completo, son preparadas en embrión de pollo y el virus extraído es inactivado con formalina o con β -propiolactona y luego se estandariza la dosis de cada uno de los virus. Por lo general, en cada vacuna se incorporan 2 virus tipo A (H1N1 y H3N2) y uno tipo B, que han circulado en el último año y que la OMS ha seleccionado previamente para ser incluidas en la vacuna de ese año. Estas vacunas se aplican por vía subcutánea y son capaces de inducir una respuesta de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación y de la neuraminidasa, los cuales confieren protección a un 60-90% (según pruebas en individuos voluntarios). Además, se logra una disminución significativa en hospitalizaciones de ancianos.

Esta vacuna se aplica anualmente con los virus correspondientes a cada año. Los anticuerpos producidos duran entre 1 y 5 años, pero el problema es la variación del virus año tras año, que vuelve la vacuna anterior obsoleta. También se ha demostrado que los ancianos desarrollan una menor respuesta inmune a la vacuna, por lo que la protección puede bajar a un 50-70% y la duración de los anticuerpos es también significativamente menor. La vacuna induce reacciones locales y sistémicas (dolor en la zona de la aplicación, fiebre y dolor de cabeza en un 20-30% de los vacunados) pero estas reacciones son pasajeras. La única contraindicación es la hipersensibilidad al huevo, que puede conducir a un episodio de anafilaxia.

Las vacunas de virus fraccionado son preferidas por que inducen menos efectos secundarios. Los virus se inactivan de la misma manera descrita anteriormente y el fraccionamiento se hace con detergentes que rompen la partícula viral. Los niveles de anticuerpos que induce este tipo de vacuna son semejantes a los inducidos por la vacuna a virus completo inactivado.

La vacuna de subunidades se prepara purificando la HA y la NA virales y generalmente está libre de RNA viral y de otras proteínas virales. Se hace una suspensión acuosa a la cual se le añade un potenciador de la respuesta inmune o adyuvante, el cual puede ser toxina B de cólera, ISCOMs o IL-2. Aunque la respuesta inducida en personas que se han vacunado en años anteriores es buena y protectora, es posible que en los ancianos y en los niños sean necesarias 2 dosis para que la respuesta inmune sea adecuadamente protectora. Tanto las vacunas de virus fraccionados como las de subunidades se aplican por vía intramuscular.

En cuanto a las vacunas de virus vivo atenuado, su producción se hace por procesos de tecnología de genes recombinantes y se administran como aerosol nasal. Son virus adaptados a temperaturas menores (25°C) y por lo tanto, no se multiplican eficientemente en el tracto respiratorio. Se producen en Estados Unidos desde 2003, pero su uso llevaba ya varios años en la antigua Unión Soviética. Las ventajas de aplicar la vacuna en la mucosa nasal incluyen el desarrollo de inmunidad neutralizante local, el desarrollo de respuesta inmune mediada por células y una respuesta inmune cruzada de mayor duración. Esta vacuna, como cualquiera otra a virus vivo atenuado, no debe ser aplicada a individuos inmunocomprometidos de cualquier tipo. Se recomienda vacunar a los niños mayores de 5 años y adultos menores de 49 años, sanos y que no estén en contacto estrecho con personas inmunodeficientes. Las personas que no cumplan estas condiciones deben vacunarse con alguna de las vacunas inactivadas.

En la actualidad, dado el brote de influenza A H5N1, se viene trabajando intensamente en la búsqueda de una vacuna que sea efectiva y cuya producción sea rápida. Los Centros para el control de las enfermedades infecciosas (CDC), tienen ya algunas cepas candidatas, pero mientras el virus siga cambiando y no se identifique la posible cepa "pandémica", no se puede preparar gran cantidad de vacuna, por el riesgo que se corre de perder todo este tiempo y trabajo en una vacuna que eventualmente no sería la apropiada. Se ha pensado que la genética reversa podría ser una de las estrategias para la producción de vacunas en forma más expedita. A grandes rasgos, esta técnica consiste en construir un virus con las características deseadas a partir de una selección de dos virus: Uno de los virus, llámese A, sería el donador de 6 de los 8 fragmentos genómicos, que le permitirán al nuevo virus, multiplicarse eficientemente en el embrión de pollo. En este caso se ha trabajado con el virus A/PR/8/34



(H1N1). Los otros dos fragmentos son la HA y NA del virus contra el cual se quiere inducir protección (ej: H5 y N1). A la HA se le han eliminado los aminoácidos básicos presentes en el sitio de clivaje de la HA con el fin de inactivar la patogenicidad viral. Cada uno de los 8 fragmentos es introducido en un plásmido que son utilizados para transfectar cultivos celulares. De allí se originará un nuevo virus, con las HA y NA deseadas, que será utilizado para inocular embriones de pollo para producir la vacuna en forma convencional.

Los ensayos hechos con esta estrategia, hasta el momento, han mostrado que el virus alcanza altos títulos en los embriones, no es patógeno para ellos como la cepa salvaje, es estable luego de varios pases en embriones, no revierte la virulencia y produce una buena respuesta inmune. La mayor ventaja es la rapidez, pues se calcula que la vacuna se podría producir en solo 4 semanas.

Influenza aviar

A pesar de que la peste aviar o influenza aviar se conoce desde hace más de un siglo, nunca antes de 1997 había afectado al ser humano con casos de enfermedad y muerte. En ese año se demostró por primera vez que el virus había traspasado la barrera de especies infectando al hombre: 18 personas enfermaron y 6 murieron. El sacrificio masivo de las aves de corral pudo contener en ese momento la diseminación del brote. La cepa involucrada era del tipo A (H5N1), una variante altamente patógena del virus. Supuestamente el virus desapareció por varios años, pero al parecer estaba circulando en comunidades rurales alejadas, de modo que en el 2003 reapareció nuevamente y desde entonces circula en algunos países asiáticos; más recientemente se ha extendido a países africanos y europeos. Para mediados del mes de marzo de 2006, el acumulado de casos y muertes era de 184 y 103 respectivamente, para una mortalidad cercana al 55%. El virus H5N1 se encuentra en constante evolución en el hombre, pero en su reservorio natural que son las aves acuáticas migratorias, el virus es bastante estable y poco patógeno. Otras especies de aves migratorias o residentes de las diferentes áreas afectadas, pueden padecer la forma severa de la enfermedad y morir; justamente, mediante la detección de aves muertas, es como se ha logrado la detección del virus en algunos países. La infección también se ha documentado en otras especies de mamíferos como los felinos.

Nadie sabe cuándo se presentará la próxima pandemia de influenza, pero es indudable que habrá otra. Las dos últimas pandemias del siglo XX, tuvieron origen en China y es posible que la primera también, pero de esta última se desconocen muchos antecedentes; lo que si se ha logrado esclarecer es que todos estos virus pandémicos se originaron a partir de virus aviares. No se sabe si el virus H5N1 va ser el responsable de la próxima pandemia, pero si sabemos que éste fue capaz de atravesar la barrera de especies y ocasionar la muerte en más de la mitad de los afectados.

Los cálculos más moderados señalan que de presentarse una pandemia, se afectaría aproximadamente un 30% de la población mundial y ningún país quedaría libre. De una población mundial de 6.000 millones de personas, esto correspondería a 1.800 millones de enfermos. La mortalidad en el mejor de los casos sería entre 2 y 7 millones de personas (0.1 a 0.5%); pero, si el virus tuviese una virulencia y una patogenicidad elevada, estas cifras se modificarían impredeciblemente y la mortalidad podría alcanzar, según algunas fuentes, de 180 a 300 millones de personas (10% de los enfermos). Ningún país, por desarrollado que sea, sería capaz de enfrentar una catástrofe de este tipo. En el mundo actual, con las facilidades de viajes intercontinentales, el virus haría su recorrido mundial en cerca de 4 meses, tiempo insuficiente para preparar una vacuna o emprender medidas de contención eficientes. Es clara, entonces, la necesidad de disponer de recursos humanos económicos suficientes para enfrentar una situación como la descrita.

El virus H5N1 se considera actualmente como un virus endémico en las aves de Asia y por tanto, se piensa que allí permanecerá. La principal medida para contener los brotes es el sacrificio masivo de todas las aves de corral de la región afectada. Hasta ahora más de 200 millones de aves han sido sacrificadas en el intento de contener el virus, pero éste cada día avanza a un sitio diferente. La obligatoriedad del sacrificio de las aves de corral hace que los dueños sean indemnizados por los gobiernos, pero no es posible mantener estas indemnizaciones por mucho tiempo. Los pequeños granjeros o avicultores no sacrificarán su única fuente de ingresos o de alimento si ellos no son indemnizados y, posiblemente, este será el reservorio del virus.

La OMS considera 6 fases dentro de una posible pandemia: actualmente está la alerta de pandemia en fase 3, lo cual quiere decir que existe un virus nuevo que ha infectado al hombre, pero que aún no hay transmisión de humano a humano; o, que si esto ocurrió fue un evento aislado. La fase 6 es la de pandemia, para la cual debemos prepararnos incansablemente.

