

**Indicaciones preliminares y provisionales ante la notificación de la OMS
de decretar la fase 6 de alerta de pandemia de influenza de origen porcino**

30 de Abril de 2009 – 5ta. actualización : 12 de Junio de 2009

Dto. Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, UBA.

José Raúl Oubiña, Daniel Oscar Sordelli

ÍNDICE

Contenido	Página
1. INFORMACIÓN GENERAL INTRODUCTORIA ANTE LA ACTUAL SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA	2
1.1. La Fase 6 de Alerta de Pandemia de la Organización Mundial de la Salud	2
1.2. Transmisión del virus Influenza A(H1N1)	2
1.3. Estimación del período de contagio	2
1.4. Utilidad de las vacunas existentes y antivirales para Influenza	3
1.5. Definiciones de casos confirmados, sospechosos y probables de influenza de origen porcino	3
1.6. ¿Qué hacer?	4
1.7. Algunas características inusuales del actual brote	6
1.8. Situación epidemiológica actual	6
2. INTRODUCCIÓN GENERAL A LOS ASPECTOS VIROLÓGICOS	8
2.1. ¿Qué es un virus?	8
2.2. ¿Por qué se denomina “Influenza”?	8
2.3 ¿Qué es el virus Influenza?	8
3. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LOS COMPONENTES DEL VIRUS INFLUENZA	11
3.1. Características estructurales del virus Influenza tipo A subtipo H1N1 de origen porcino	15
4 ALGUNOS ELEMENTOS DE LA PATOGÉNESIS MOLECULAR DE LA INFECCIÓN POR VIRUS INFLUENZA ESTACIONAL (H1N1 Y H3N2) E INFLUENZA AVIAR (H5N1) Y SU POTENCIAL RELEVANCIA (POR EXTRAPOLACIÓN Y COMPARACIÓN) ANTE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA DEL TIPO A SUBTIPO H1N1 DE ORIGEN PORCINO	20
4.1. Implicancias de la replicación viral	20
4.2. Factores de virulencia y transmisibilidad	21
5. PERSPECTIVAS Y CONCLUSIONES	25
6. BIBLIOGRAFÍA	26

1. INTRODUCCIÓN GENERAL INTRODUCTORIA ANTE LA ACTUAL SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

1.1. La fase 6 de Alerta de Pandemia de la Organización Mundial de la Salud. La Fase 6 de Alerta de Pandemia de la Organización Mundial de la Salud “indica pandemia, y está caracterizada por brotes a nivel de la comunidad en al menos otro país en una diferente región de la OMS, además de los criterios definidos para la fase 5”. La fase 5 indica que “existe un importante e inminente riesgo de ocurrencia de la misma, ya que se han producido focos de transmisión interhumana en al menos dos países dentro de una región de la OMS. Esta fase indica que el tiempo disponible para la finalización de las tareas de organización, comunicación e implementación para los planes de mitigación es breve”. Aunque los focos son todavía localizados, el virus ha incrementado su adaptación a la especie humana. La fase 6 indica el actual grado de diseminación viral entre la población humana, no la gravedad de la enfermedad producida.

- ✓ A la fecha, más de 70 países han reportado casos de infección humana con el virus emergente Influenza A(H1N1) de origen porcino. Ahora el virus está produciendo brotes en la comunidad en múltiples localizaciones geográficas.
- ✓ La gravedad del curso de la pandemia puede modificarse a través del tiempo y variar según las diversas localizaciones geográficas y las poblaciones afectadas.

1.2. Transmisión del virus Influenza A(H1N1). El virus Influenza se transmite principalmente entre personas a través del acto de toser o estornudar de individuos infectados. El virus puede ingresar al individuo susceptible por vía respiratoria o conjuntival. Potencialmente, existe la posibilidad de transmisión por contacto directo con secreciones del individuo infectado, por lo cual se sugiere evitar dicho contacto (besos, estrechar manos, etc.). El nuevo virus de la gripe de origen porcino (Influenza tipo A subtipo H1N1) emergente no se transmite mediante la ingesta de alimentos de origen porcino adecuadamente preparados.

1.3. Estimación del período de contagio. Aunque el mismo no ha sido definitivamente establecido, las personas infectadas con el virus Influenza A(H1N1) emergente deben considerarse provisionalmente como fuentes potenciales de contagio desde un día antes hasta 7 días después de la aparición de los síntomas. Por este motivo, un individuo aparentemente sano pero ya infectado, puede contagiar. Aquellos pacientes que continúan enfermos más allá de este período, deben considerarse potencialmente contagiosos hasta que la sintomatología desaparezca. Los niños –aparentemente- serían contagiosos por períodos más prolongados.

1.4. Utilidad de las vacunas existentes y antivirales para Influenza. No existen vacunas específicas para el nuevo virus, pero hay inhibidores de una enzima viral denominada Neuraminidasa que son eficaces si se administran precozmente (Oseltamivir y Zanamivir; el primero de estos medicamentos está disponible en el país, mientras que el segundo aún no). Los datos de Resistencia al Oseltamivir de las Cepas de Influenza A H1N1 emitidos por la OMS el 19 de Marzo de 2009, no corresponden al virus emergente actual sino a las cepas circulantes en ese momento en todo el mundo que ostentan la misma denominación de su hemaglutinina (H) y Neuraminidasa (N). Se prevé la obtención de vacunas específicas para el nuevo virus emergente dentro del término de los próximos 5-6 meses.

1.5. Definición de casos confirmados, sospechosos y probables de influenza de origen porcino (según el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades; CDC, de EE.UU, así como la adecuación local a la definición de casos sospechosos según el Ministerio de Salud de la Nación).

Según el CDC:

- ✓ Un caso confirmado de influenza de origen porcino es definido como aquel que corresponde al paciente que padece una enfermedad respiratoria febril aguda semejante a la gripe (estacional) con confirmación virológica mediante una o más de las siguientes pruebas de laboratorio: RT-PCR en tiempo real o cultivo viral. Se define como enfermedad semejante a la gripe, a la asociada a fiebre igual o mayor a 37,8° C, tos y/o angina, en ausencia de una causa conocida, excepto influenza.
- ✓ Un caso probable de influenza de origen porcino es definido como aquel que corresponde al paciente que padece una infección respiratoria aguda

semejante a la gripe (estacional) que es positivo para Influenza A, pero negativo en la amplificación de los genes de las hemagglutinas (previamente conocidas) H1 y H3 mediante RT-PCR.

- ✓ Un caso sospechoso de influenza de origen porcino es definido como el de aquella persona que padece una enfermedad influenza-símil, que no es comprendida por las definiciones de “caso confirmado” o “caso sospechoso”, que no tiene (aún) un resultado negativo en el nuevo test utilizado para detectar el virus emergente y cumple una de las siguientes condiciones:
 - Persona sana menor de 65 años hospitalizada por una enfermedad símil-influenza.
 - Persona con enfermedad símil-influenza que reside en una provincia (estado, en EE.UU.) donde no hay casos confirmados, pero ha viajado a otra u otro país donde hay uno o más casos confirmados o probables.
 - Persona con enfermedad símil-influenza que exhibe nexo epidemiológico con un caso confirmado o probable de influenza de origen porcino dentro de los 7 días previos.

Según el Ministerio de Salud de la Nación (Argentina):

Se considera caso sospechoso al correspondiente “a toda persona que presente enfermedad respiratoria aguda febril ($>38^{\circ}$ C) en un espectro que va de enfermedad tipo influenza a neumonía y que:

- presente síntomas dentro de los 7 días posteriores a la fecha de su salida de zonas afectadas con transmisión humano-humano sostenida (según listado de países de OMS), o
- presente síntomas en los próximos 7 días a haber tenido contacto estrecho con un caso sospechoso o confirmado de Influenza A H1N1”.

1.6. ¿Qué hacer?

- ✓ Mantenerse informado. Este sitio *web* será actualizado periódicamente para proveer la información relevante a la comunidad educativa de esta Casa de Estudios, e incluirá los vínculos informáticos ([links](#)) con diversos centros de referencia nacionales e internacionales.

<http://www.msal.gov.ar> (Ministerio de Salud de la Nación)

<http://www.anlis.gov.ar> (Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán")

<http://www.cdc.gov> (Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, EE.UU.)

<http://www.who.org> (Organización Mundial de la Salud)

Recuerde que Ud. puede contribuir a la Salud Pública:

- ✓ Cubra su nariz y boca con pañuelos descartables al toser o estornudar, y elimine las unidades utilizadas en los recipientes destinados al desecho de residuos.
- ✓ Lave sus manos con agua y jabón frecuentemente durante el día al menos durante 20-30 segundos, y especialmente luego de toser o estornudar, o estar en contacto con secreciones de un individuo enfermo (incluyendo las de los propios niños) con enfermedad influenza-símil. El uso de geles con alcohol es también eficaz.
- ✓ Evite llevar sus manos a los ojos, nariz o boca.
- ✓ Permanezca a una distancia prudencial si está al cuidado de un enfermo con gripe de origen porcino (al menos un metro).
- ✓ Ventile tanto como sea posible sus ambientes hogareños.
- ✓ Permanezca en su domicilio y consulte al médico si padece sintomatología compatible con una gripe. Ello evitará la eventual diseminación viral al ámbito de estudio o laboral.
- ✓ Utilice barbijos si está al cuidado de pacientes con una enfermedad Influenza-símil.
- ✓ De ser posible, reduzca a lo indispensable el tiempo compartido en contacto cercano con una persona con una enfermedad influenza-símil, y la asistencia a lugares sobrepoblados cerrados.
- ✓ Siga las instrucciones emanadas de las autoridades de Salud Pública.

1.7. Algunas características inusuales de la pandemia

- ✓ 60% de los afectados en EE.UU. son menores de 18 años, lo que sugiere que los adultos jóvenes y niños podrían ser más susceptibles que las personas mayores.
- ✓ Las características clínicas incluyeron en los pacientes de EE. UU. inicialmente analizados (n= 642, al 5 de mayo de 2009) fiebre (94% de los pacientes), tos (92%), angina (66%); diarrea (25%) y vómitos (25%).
- ✓ El espectro clínico de la infección producida por este nuevo virus está siendo definido, y abarca tanto casos de enfermedad autolimitada, como otros con severo desenlace, incluyendo neumonía, falla respiratoria y muerte.

1.8. Situación epidemiológica actual

- ✓ Al día 12 de Junio, la OMS informa que 74 países han reportado oficialmente la ocurrencia de 29.669 casos de infección por el nuevo virus Influenza A (H1N1) que incluyeron 145 muertes asociadas (figura 1).
- ✓ En México, se observa una tendencia decreciente en la confirmación de nuevos casos, lo que sugiere que el pico del brote ha ocurrido hacia fines de Abril, aunque aún se registra transmisión viral.
- ✓ Argentina reportó el primer caso el día 7 de Mayo de 2009.

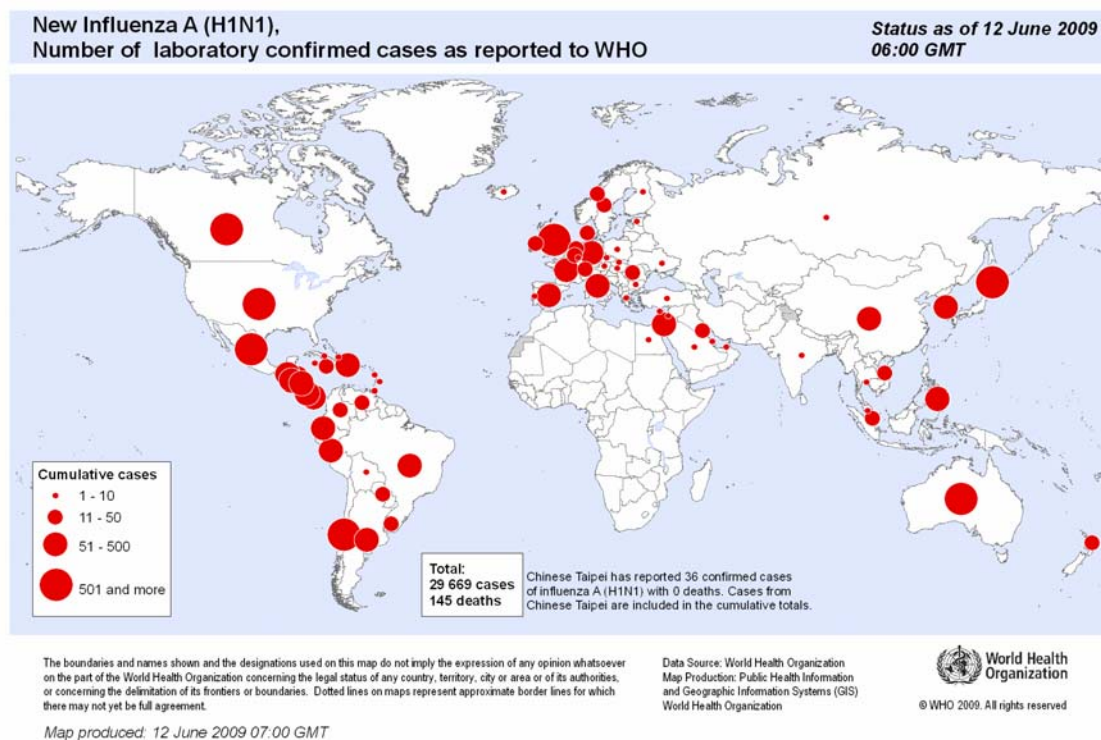


Fig. 1. Distribución de casos confirmados y muertes asociadas a la infección por Influenza A(H1N1) de origen porcino.

2. INTRODUCCIÓN GENERAL A LOS ASPECTOS VIROLÓGICOS

2.1. ¿Qué es un virus?

La palabra significa “veneno”. Se lo define como un agente que posee 3 características: 1) parasitismo genético para su replicación; 2) infectividad; 3) antigenicidad.

2.2. ¿Por qué se denomina “Influenza”?

Esta denominación proviene del latín: *influentia*, que hace referencia a antiguas creencias que indicaban que las epidemias ocurrían debido a influencias astrales.

2.3. ¿Qué es el virus Influenza?

Este virus pertenece a la familia *Orthomyxoviridae* (*Ortho*: verdadero; *myxo*: mucus; indicando la capacidad de este agente para unirse a dicha sustancia).

Las partículas virales se pueden observar al microscopio electrónico con características pleomórficas, redondeadas u ovals, cuyo diámetro es de 80 a 120 nm (1 nm o nanómetro = 10^{-9} m), según se observa en las figuras 2 y 3.

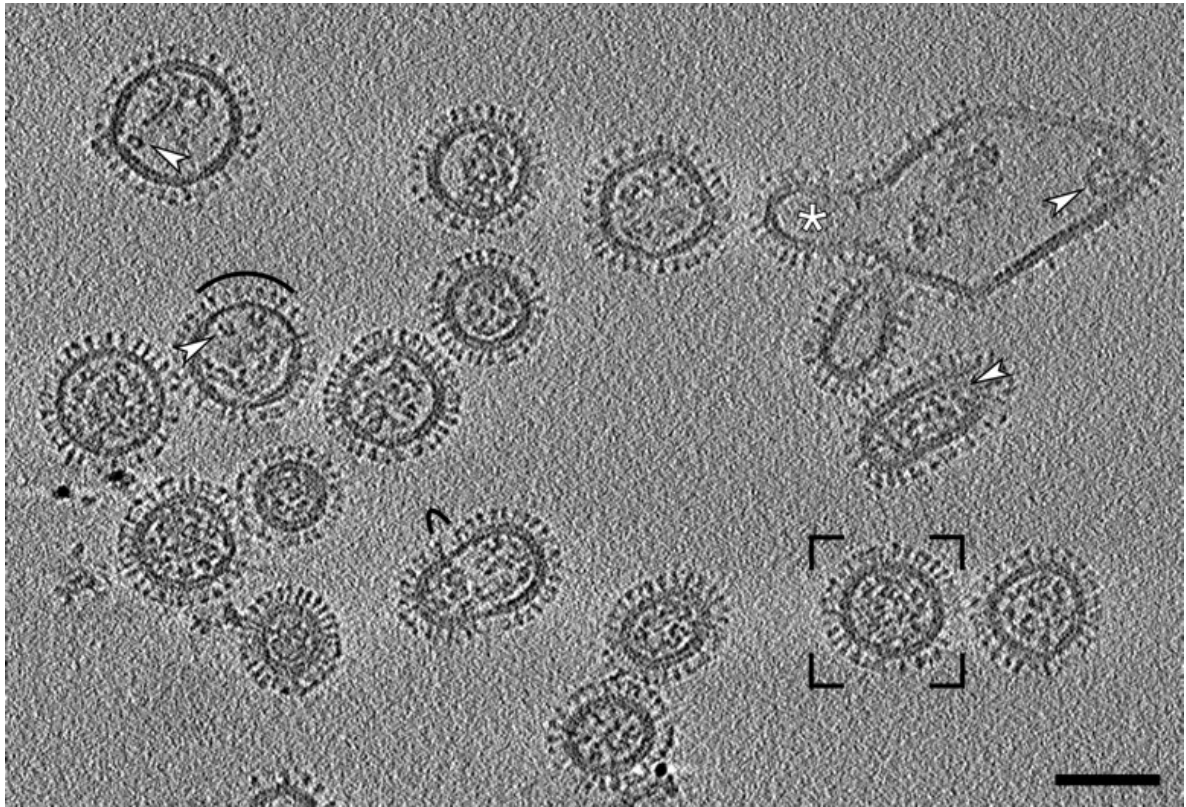


Fig. 2. Sección obtenida mediante tomografía crioelectrónica correspondiente a un campo conteniendo partículas de virus Influenza. Las flechas blancas indican ribonucleoproteínas (RNP) típicas del virus. Los arcos negros indican áreas de la capa de matriz con zonas que exhiben gaps o una menor densidad de “paquetes” de glicoproteínas de envoltura. La imagen irregular marcada con un asterisco - probablemente se haya formado en el proceso de disrupción celular- contiene en su interior una partícula brotando. La partícula viral enmarcada se observa también en la figura 3. La barra ubicada en el extremo inferior derecho del panel D indica 100 nm. Fuente: Harris A. *et al.* PNAS 2006, 13: 19123-7.

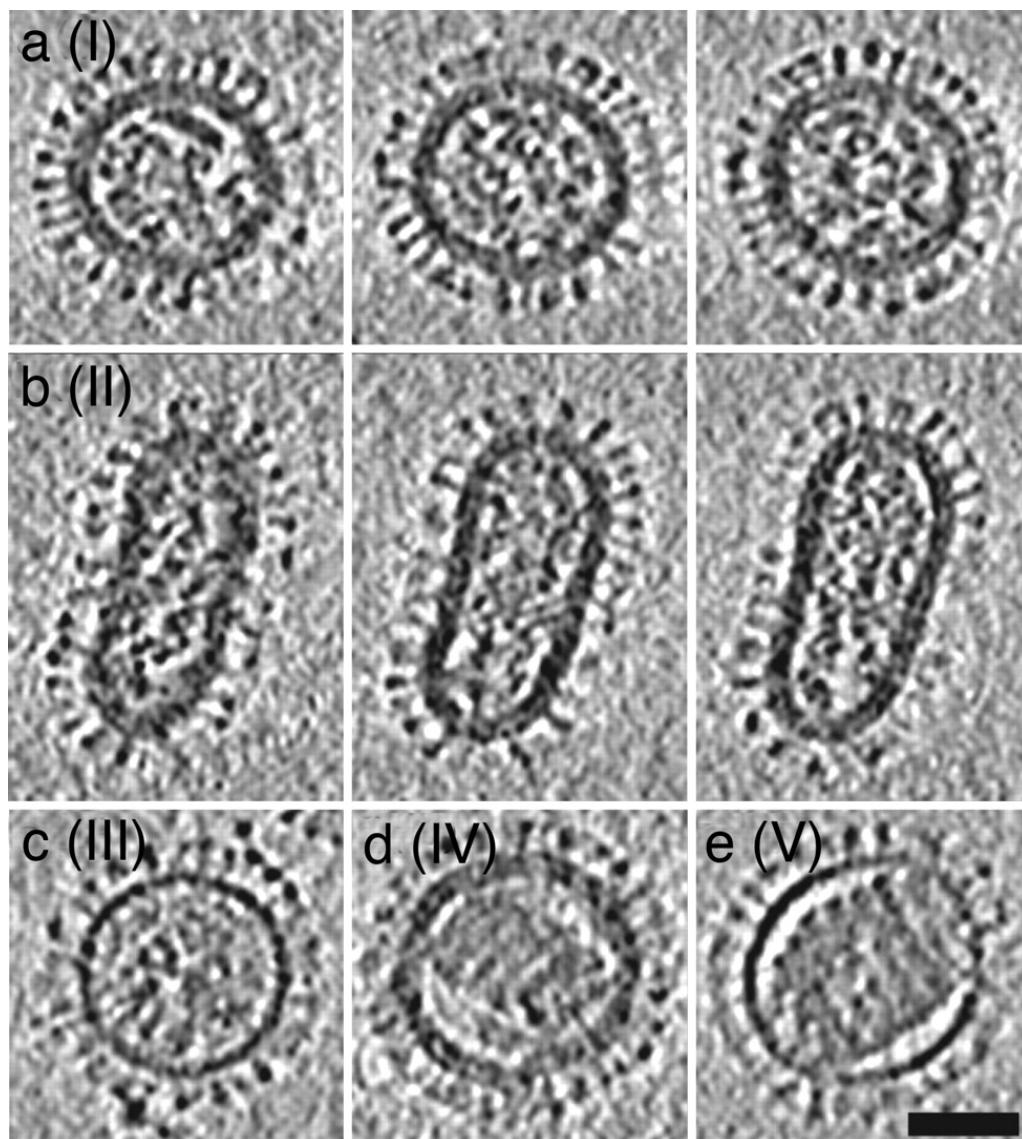


Fig. 3. Pleomorfismo de las partículas del virus Influenza. El panel “a” corresponde a la imagen recuadrada en la figura 1. La barra horizontal indica 50 nm.
Fuente: Harris A. *et al.* PNAS 2006, 13: 19123-7.

3. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LOS COMPONENTES DEL VIRUS INFLUENZA

Se trata de virus envuelto con genoma a RNA segmentado, cuya información genética está codificada en el sentido opuesto a la de los RNA mensajeros (polaridad negativa o [-]). Diferencias antigénicas en las proteínas de la matriz (M1) y nucleoproteína (NP) permiten clasificar a estos virus en 3 tipos: A, B y C. Los virus del tipo A, a su vez, pueden ser subclasificados en base a las características antigénicas de las glicoproteínas de su envoltura, la hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA). Los virus Influenza A producen enfermedad en humanos, porcinos, equinos, aves y mamíferos marinos como focas y ballenas. Los virus Influenza B e Influenza C producen enfermedad sólo en el hombre. Los virus Influenza tipo A y tipo B poseen un **genoma fragmentado** en 8 segmentos, mientras que el tipo C exhibe 7. Algunos fragmentos genómicos del virus codifican 1 proteína viral, mientras otros codifican 2. Hasta el momento se han descubierto 11 proteínas del virus Influenza A (Tabla 1; Figuras 4 y 5).

Tabla 1. Relación entre los segmentos del genoma a RNA viral y las proteínas codificadas por Influenza tipo A.

Segmento de RNA	Proteínas codificadas	Algunas funciones de importancia asociadas a las proteínas virales
• 1	• PB2 (polimerasa básica 2)	• Polimeriza el RNA viral complementario (+)
• 2	• PB1 (polimerasa básica 1) • PB1-F2 (proteína codificada en el 2do. marco de lectura de este segmento del RNA viral)	• Polimeriza el RNA viral complementario (con polaridad [+]) • Promueve la muerte de células del sistema inmune (macrófagos alveolares tipo II; células dendríticas) mediante apoptosis mediada por las mitocondrias; regula a PB1. <u>Péptido truncado inactivo en las cepas del nuevo virus emergente A(H1N1).</u>

• 3	• PA (polimerasa ácida)	• Polimeriza el RNA viral (-)
• 4	• HA (hemaglutinina)	• Promueve la adsorción viral a receptores celulares de ácido siálico, por lo que determina el rango de especie
• 5	• NP (nucleoproteína)	• Protege el material genético viral en la célula • Transporta el RNA viral al núcleo • Colabora con la actividad de la PA
• 6	• NA (neuraminidasa)	• Libera las partículas virales de sustancias mucoides y permite el egreso viral de la célula, por lo que está implicada en la transmisibilidad viral
• 7	• M1(proteína de matriz 1) • M2 (proteína de matriz 2)	• Promueve la interacción entre la nucleocápside y la envoltura viral • Actúa como canal iónico de transmembrana que permite la acidificación viral necesaria para proseguir la infección intracelular
• 8	• NS1 (proteína no estructural 1)	• Inhibe la actividad antiviral inducida por el sistema Interferón, al impedir el reconocimiento celular del RNA viral por el “sensor” celular RIG-1 (limitando la inducción de aquél), y al bloquear la actividad de la proteínas

	• NS2 / NEP (proteína no estructural 2 / proteína de exportación nuclear)	celulares PKR y CPSF30 • Regula la transcripción / replicación viral • <u>Péptido truncado inactivo para su interacción con otras proteínas en las cepas del nuevo virus emergente A(H1N1).</u> • Se asocia al transporte de nucleocápsides hacia la membrana citoplasmática (junto a M1)
--	---	--

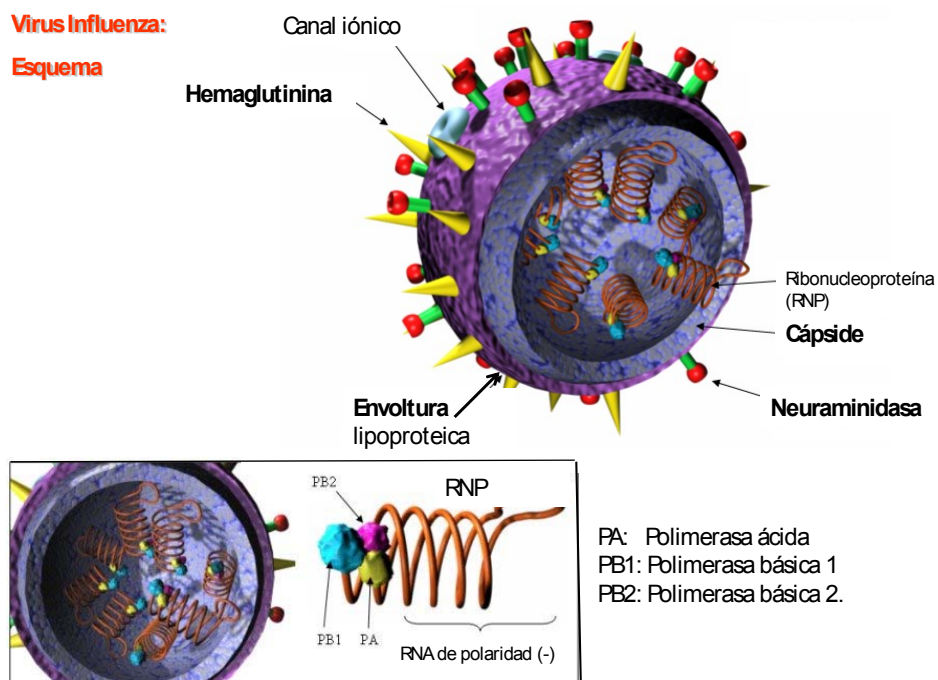


Fig. 4. Esquema que representa al virus Influenza y a sus principales componentes.

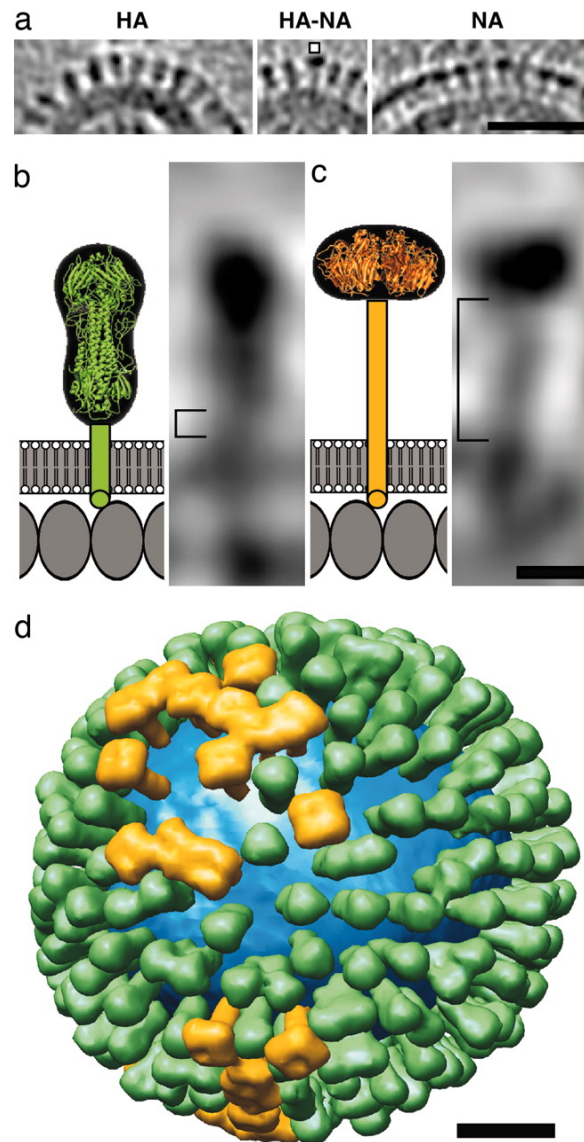


Fig. 5. Distribución de las hemagglutininas (HA) y neuraminidasas (NA) en la superficie del virus Influenza, según su disposición espacial. Se observa un *cluster* de hemagglutininas (panel “a”, a la izquierda), una molécula de neuraminidasa en un *cluster* de hemagglutininas (panel “a”, al centro) y un *cluster* de neuraminidasas (panel “a”, a la derecha). Los paneles “b” y “c” muestran dentro del recuadro respectivo la estructura de HA y NA. La barra horizontal indica 5 nm. El panel “d” muestra un modelo de distribución de HA (en verde) y NA (en amarillo), así como de la capa lipídica de envoltura (en azul). La barra indica 20 nm.
Fuente: Harris A. et al. PNAS 2006, 13: 19123-7.

3.1. Características estructurales del virus Influenza tipo A subtipo H1N1 de origen porcino

Las figuras 6 y 7 muestran la representación esquemática del genoma del virus y su aspecto al microscopio electrónico, respectivamente.

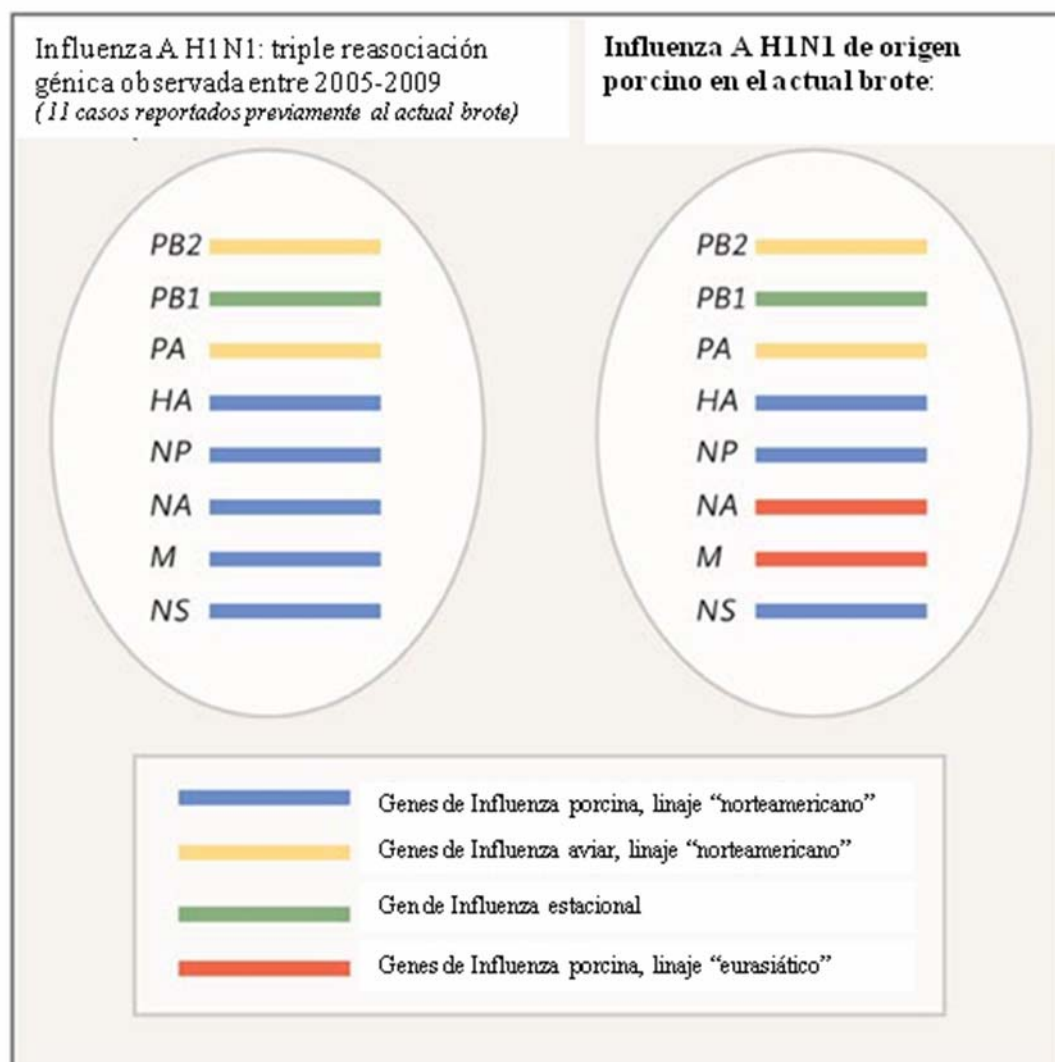


Fig. 6. Virus Influenza A H1N1 de origen porcino causante del actual brote. Composición genética.

Adaptada del *New England Journal of Medicine*. www.nejm.org May 7, 2009 (10.1056/NEJMoa0903810).

PB2: polimerasa básica 2, PB1: polimerasa básica 1; PA: polimerasa ácida; HA: hemaglutinina, NP: nucleoproteína; NA: neuraminidasa; M: matriz; NS: proteína no estructural. Obsérvese la reasociación de genes provenientes de virus Influenza porcino (dos linajes diferentes), aviar, y humano.

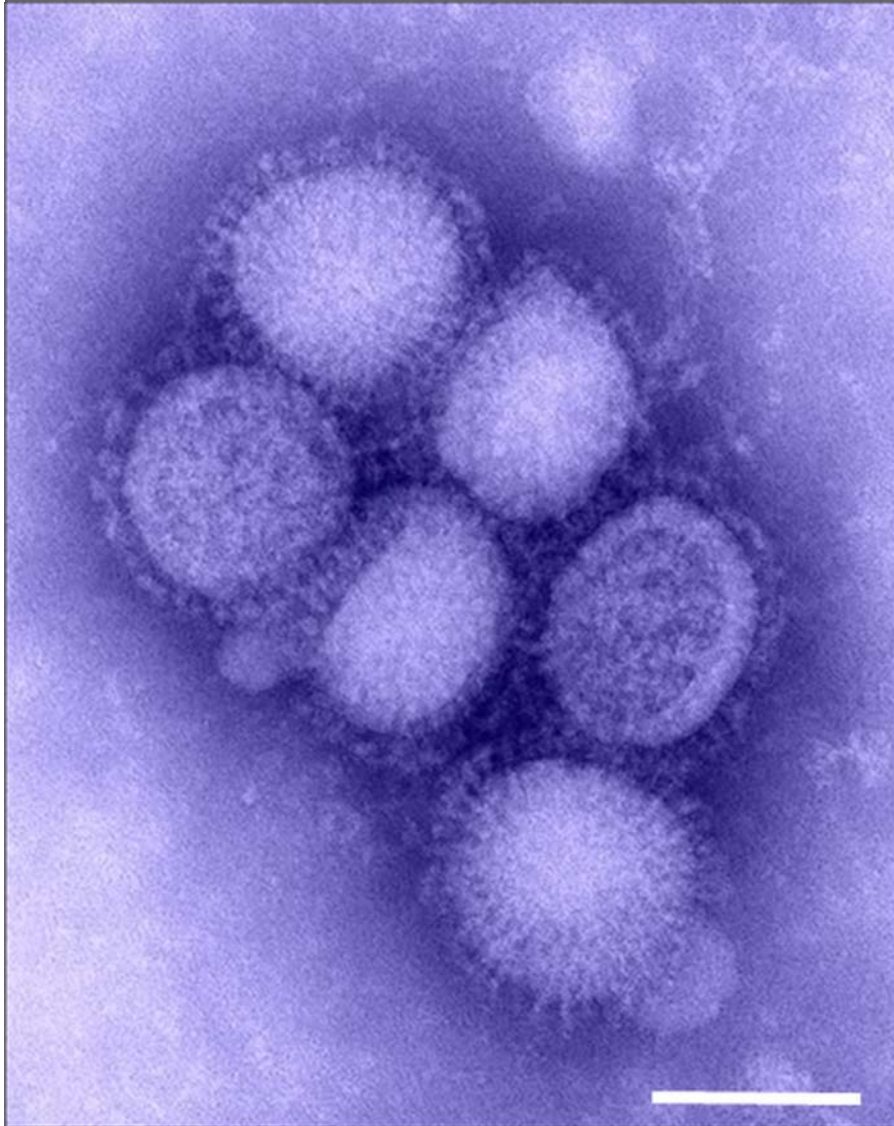


Fig. 7. Virus **Influenza A(H1N1)** causante de la actual pandemia de influenza de origen porcino en 2009. Fuente: CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*, EE.UU.). Se observan partículas ovales o esféricas con espículas correspondientes a la expresión en su superficie de moléculas de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA). La barra blanca indica 100 nm.

El nuevo virus causante del brote 2009 inicialmente detectado en México y luego en EE.UU. es la resultante de la reasociación de segmentos de RNA de virus Influenza de origen porcino, aviar y humano. A su vez, el origen porcino de 5 de dichos fragmentos es diverso: 3 de ellos están emparentados con el linaje “norteamericano” y otros 2 con el “eurasiático” (Figura 5). No se conocen antecedentes de que este nuevo virus haya circulado alguna vez en humanos o animales. Se ha establecido que el virus ha penetrado en la población humana varios meses antes de la detección del brote en México.

La secuencia de aminoácidos de la hemaglutinina (H1) de Influenza A H1N1 de origen porcino difiere sustancialmente de la correspondiente a cepas de Influenza estacional circulantes en 2008 (también de la familia H1) y consiguientemente, de la actual vacuna en uso para humanos. A modo de ejemplo, estimaciones preliminares documentaron un 27,2% de cambios al compararse la cepa emergente A/California/08/2009 (H1N1) con la de la cepa estacional A/USA/WRAMC-1154048/2008 (H1N1). En modo análogo, la secuencia aminoacídica de la neuraminidasa exhibe un 18,2% de sustituciones respecto a la de cepas circulantes en 2008. Estos cambios tan importantes se encuadran entre los denominados cambios “mayores”, aun cuando el virus sigue perteneciendo al subtipo H1N1 de virus. Los cambios observados en la hemaglutinina del nuevo virus están concentrados en los 5 sitios antigénicos (A-E) responsables de inducir anticuerpos neutralizantes; además el sitio C exhibe la sustitución aminoacídica Asp277Asn (ácido aspártico→asparagina en la posición 277 de la hemaglutinina) que “introduce” un nuevo sitio de glicosilación que podría “enmascarar” dicho determinante antigénico (Figura 8).

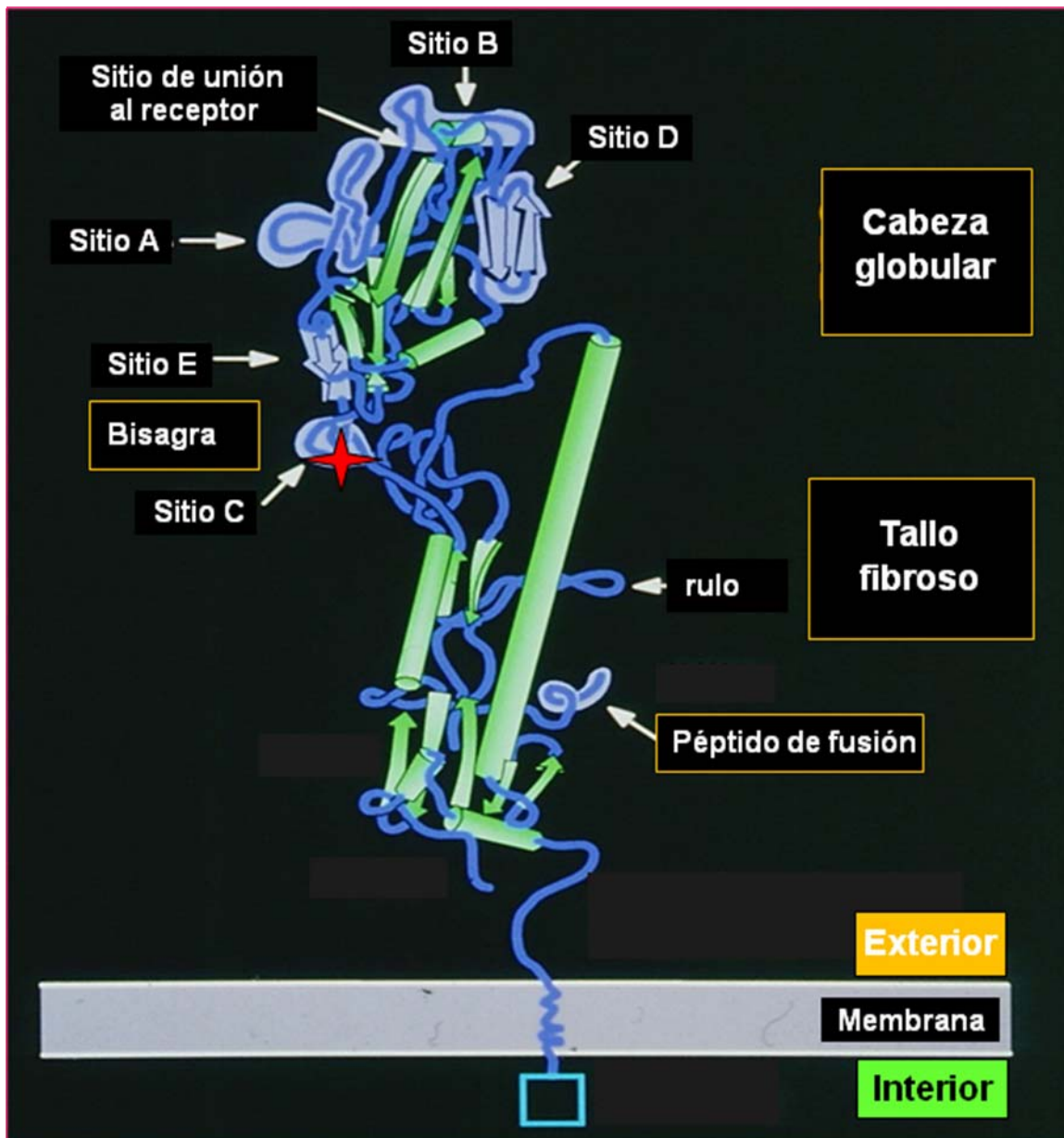


Fig. 8. Esquema de un monómero de hemaglutinina insertado en una membrana exhibiendo los sitios antígenicos A-E. La estrella pintada en rojo indica el nuevo sitio de glicosilación dentro del sitio antígeno C debido a la sustitución Asp→Asn en la posición 277.

De lo expuesto, resulta imposible aseverar la existencia de algún grado de inmunidad previa en la actual población humana mundial. Más aún, en opinión de algunos expertos, es posible la total inexistencia previa de dicha inmunidad a la infección por el nuevo virus, o en caso de existir -como consecuencia de un restringido grado de reactividad antigénica cruzada con otras cepas previamente circulantes- que la misma sea muy limitada. Aproximadamente un tercio de los adultos >60 años de EE.UU. testeados, exhibe anticuerpos neutralizantes con reactividad cruzada contra el virus emergente, aunque se desconoce si ellos confieren algún grado de protección. Al respecto, es intrigante la estrecha asociación entre la edad y la tasa de ataque observada en la comunidad de La Gloria, Pcia. de Veracruz, México (61% < 15 años), y en los primeros 642 casos en EE.UU. (60% < 18 años). Se ignora si ello se debe a un patrón de transmisión del virus o a un eventual grado de inmunidad en los mayores de 60 años. La hemaglutinina del nuevo virus es también distinta de la que produjo la pandemia de 1918, a pesar de que ambos virus pertenecen al mismo tipo (A) y subtipo (H1N1), difiriendo en un 18% de sus respectivas secuencias aminoacídicas. El último cambio mayor de virus de influenza humana había ocurrido en 1968 (H3N2). El virus de influenza aviar tipo A subtipo H5N1 ha producido hasta el momento un muy restringido número de casos asociados a la transmisión interhumana.

La secuencia de aminoácidos de la hemaglutinina responsable de la interacción con receptores celulares es idéntica al compararse la observada en cepas del nuevo virus y la de las circulantes en 2008, por lo que es plausible que el espectro de infección en el tracto respiratorio humano sea semejante.

Los datos iniciales y provisorios del nuevo virus H1N1 de origen porcino indican que la proteína PB1-F2 (uno de los factores de virulencia; ver Tabla 1) no sería funcional debido a una mutación en el codón 12 que genera una señal de terminación dentro del marco de lectura, lo cual produce un péptido truncado. Asimismo, a diferencia de ciertas cepas de Influenza (estacional) A H1N1 que se caracterizaron hasta Febrero 2009, el virus emergente de origen porcino (en las cepas analizadas desde abril hasta la publicación de este informe) exhibe sensibilidad a los antivirales que actúan como inhibidores de la neuraminidasa viral (Oseltamivir y Zanamivir).

4. ALGUNOS ELEMENTOS DE LA PATOGENESIS MOLECULAR DE LA INFECCIÓN POR VIRUS INFLUENZA ESTACIONAL A(H1N1) Y A(H3N2) E INFLUENZA AVIAR A(H5N1) Y SU POTENCIAL RELEVANCIA (POR EXTRAPOLACIÓN Y COMPARACIÓN) ANTE LA INFECCIÓN POR INFLUENZA DEL TIPO A SUBTIPO H1N1 DE ORIGEN PORCINO

4.1. Implicancias de la replicación viral

Una mayor replicación del virus Influenza se asocia a una mayor virulencia. Dos características sobresalen de su RNA: 1) su inestabilidad; y 2) su plasticidad. Ambas características posibilitan la evolución particular e impredecible de este agente en la naturaleza.

El virus es capaz de padecer cambios hasta en aproximadamente un 50% de su secuencia aminoacídica en las glicoproteínas de envoltura (hemaglutinina y neuraminidasa) y conservar aún su función. Algunas de dichas sustituciones (o en otras proteínas virales) se asocian a cambios antigénicos.

Por ser Influenza un virus con genoma a RNA que utiliza para su replicación un complejo de polimerasas virales (PA, PB1 y PB2) que no tienen capacidad de lectura de prueba (corrección de errores al momento de la copia del templado de RNA), pueden ocurrir errores en el proceso de copia de las bases complementarias al templado (mutaciones). Estas mutaciones –así como las promovidas por la presión de selección positiva del sistema inmune– promueven cambios antigénicos menores en las glicoproteínas de envoltura (en inglés *antigenic drifts*) y se asocian a las epidemias anuales observadas. La ocurrencia de algunas mutaciones específicas puede afectar el tropismo del virus por un determinado hospedador ú órgano, la virulencia de las cepas y su transmisibilidad.

La segmentación del RNA viral favorece su reasociación (mezcla de fragmentos genómicos de diferente origen) cuando en una misma célula hospedera coexisten dos o más virus Influenza diferentes. El evento de reasociación génica del RNA de Influenza ha dado origen a las pandemias de 1957 (H2N2) y 1968 (H3N2), sin participación directa de porcinos. La designación de dichos subtipos dentro del tipo A de virus Influenza indica los cambios antigénicos mayores entonces ocurridos (en inglés *antigenic shifts*) en las respectivas hemaglutininas y neuraminidasas, observándose la sucesiva (H1N1→H2N2→H3N2) o concomitante circulación (desde 1977 hasta el presente H3N2 y H1N1) de cepas de Influenza A (además de la B). La pandemia de 1918 (H1N1) ocurrió por un “salto” de especie de un virus totalmente aviar transmitido al hombre.

Al momento de elaborar este reporte (12/06/2009) se ignora el comportamiento que tendrá el nuevo virus Influenza A H1N1 de origen porcino en función de la actual circulación de cepas causantes de la influenza estacional por virus tipo A subtipos H1N1 y H3N2. También se desconoce el comportamiento que el nuevo virus podría tener en un determinado hospedador ante la eventual coinfección con el virus aviar altamente patógeno Influenza tipo A subtipo H5N1.

4.2. Factores de virulencia y transmisibilidad

La virulencia asociada al virus Influenza tiene un origen multigénico, ya que se asocia a la expresión de los genes codificantes de la hemaglutinina (HA), la neuraminidasa (NA), la polimerasa básica 1 (PB1), PB2, y de las proteínas NS1 y PB1-F2 (PB1 *Frame2*, codificada en forma parcialmente yuxtapuesta aunque en un marco alternativo de lectura al correspondiente a PB1 y expresada en una significativa proporción de cepas del tipo A). Como se indicó precedentemente, en el genoma de las primeras cepas analizadas del nuevo virus emergente, PB1-F2 exhibe una mutación genómica que tornaría funcionalmente inactivo al péptido derivado, ya que no abarca el dominio de localización mitocondrial, responsable de su función pro-apoptótica.

La transmisibilidad del virus Influenza reconoce también un origen multigénico, estando asociada a la hemaglutinina, la neuraminidasa, PB1 y PB2. La presencia del aminoácido ácido glutámico en la posición 627 de PB2 en las cepas inicialmente caracterizadas en 2009 de Influenza A(H1N1) de origen porcino (en lugar de lisina, un marcador de alta transmisibilidad inter-humana en otras cepas de Influenza humana) y la significativa transmisibilidad inter-humana observada en las primeras semanas de propagación de Influenza A(H1N1) emergente, sugieren que otros marcadores aún desconocidos están presentes en este nuevo virus.

En la Tabla 2, se indican algunos elementos comparativos entre las características de las infecciones producidas por el nuevo virus Influenza A(H1N1) de origen porcino, respecto a otros previamente caracterizados.

Tabla 2. Comparación preliminar y provisoria entre la infección por Influenza A(H1N1) de origen porcino y las producidas por otros virus Influenza A.

Característica	Influenza A(H1N1) causante de pandemia en 1918	Influenza A(H2N2) causante de pandemia en 1957	Influenza A(H5N1) aviar	Influenza A(H1N1) y A(H3N2) estacional	Influenza A(H1N1) de origen porcino (2009)
Transmisión interhumana	+++ / ++++	+++ / ++++	→ ± (extremadamente restringida)*	++	+++
Gravedad clínica	++++	+++	++++	++	++** / +++**

*: Hasta el presente (junio de 2009).

** : La mayoría de los casos exhibe un curso moderado, sin necesidad de hospitalización o cuidado médico, semejante a lo observado ante la gripe estacional, aunque en ciertas áreas se ha registrado un significativo grado de gravedad clínica, especialmente entre personas jóvenes, incluyendo individuos previamente sanos, otros con patología subyacente y mujeres embarazadas.

Aunque no se conocen con certeza todos los factores que determinan la patogenicidad (capacidad de producir enfermedad) y virulencia (gravedad de la enfermedad) de los virus Influenza, se puede afirmar que algunos de éstos se asocian a un amplio tropismo tisular y a la habilidad de replicar sistémicamente. A nivel molecular, uno de los determinantes de alta patogenicidad y virulencia es la presencia de una serie de aminoácidos básicos en el sitio de clivaje de la hemaglutinina (HA) de envoltura, lo que le permite utilizar las proteasas presentes en una extensa gama de tejidos y por ende replicar en ellos, provocando así una enfermedad más grave. Este evento conduce a las severas manifestaciones sistémicas observadas en pacientes infectados con el tipo A subtipo H5N1 de Influenza (uno de los agentes de gripe aviar). Sin embargo, dichas secuencias aminoacídicas básicas no se encuentran presentes en las deducidas luego del secuenciamiento nucleotídico de las primeras cepas de virus Influenza A H1N1 emergente en 2009.

La actividad de la NA es crítica para la liberación de las partículas virales que quedan adheridas a la membrana citoplasmática, lo que permite la diseminación viral al producirse el egreso mediante brotación. Las polimerasas PB1 y PB2 (junto con la PA) participan en la constante evolución viral asociada a la emergencia de mutaciones nucleotídicas y a eventuales cambios aminoacídicos y de los correspondientes perfiles de glicosilación, debido a la falta de lectura de prueba inherente al complejo enzimático de polimerización. PB2 es también asociada a la diferente propagación viral y virulencia en distintos tejidos y especies: son críticos los residuos aminoacídicos en las posiciones 627 (Glu: ácido glutámico; ó Lys: lisina) y 701 (Asp: ácido aspártico; ó Asn: asparagina). Las cepas aviares altamente patogénicas H5N1 y el nuevo virus H1N1 de origen porcino (cuyo fragmento de RNA codificante de PB2 es de origen aviar según se observa en la figura 5) exhiben Glu en la posición 627, mientras que las cepas de virus Influenza humanas hasta 2008 circulantes portaban Lys en dicha posición. El reemplazo Glu→Lys en las cepas aviares se asocia a la adaptación viral para propagarse en células humanas y determina una alta patogenicidad en mamíferos. Sin embargo, la presencia de Lys parecería no ser totalmente imprescindible, ya que otras mutaciones compensatorias pueden proveer la adaptación a mamíferos cuando dicha sustitución está ausente. Además, la presencia de Glu ó Lys en la posición 627 de PB2 determina, respectivamente, la menor o mayor capacidad viral de replicar a 33°C. Para una adecuada propagación viral interhumana a través del estornudo y la tos, es imprescindible que el virus pueda replicar en el tracto respiratorio superior, donde existe dicha temperatura. De allí que para una eventual propagación pandémica del virus Influenza H5N1 (cuyos genes son de origen aviar) se haya postulado la crucial presencia de la sustitución Glu→Lys en PB2 que posibilite la propagación tanto en el tracto respiratorio bajo como alto. La presencia del aminoácido Asp en la posición 701 de PB2 es habitual entre las cepas aviares de Influenza, así como en las inicialmente caracterizadas H1N1 de origen porcino. Su sustitución por Asn en la cepa A/duck-Guangxi/35/2001 (H5N1) se asoció a alta virulencia en ratones.

La proteína NS1 es la principal responsable de la evasión a la respuesta inmune que exhiben cepas previamente caracterizadas de Influenza. Sin embargo, la cepa emergente A(H1N1) de origen porcino, posee una señal de terminación en el codón 220, lo cual crea una delección en el dominio peptídico que permite su interacción con otras proteínas (véase la Tabla 1, y la

subsiguiente referencia en letra pequeña al pie de página*). Finalmente, es necesario destacar que la proteína PB1-F2 está codificada por muchas pero no todas las cepas del tipo A (especialmente su prevalencia es menor en las cepas humanas de Influenza A H1N1 que circularon en los últimos años). PB1-F2 exhibe (entre otras) una localización mitocondrial que produce su alteración morfológica, la consiguiente pérdida del potencial de membrana mitocondrial y promueve la apoptosis de los macrófagos alveolares tipo 2. Esto afecta la respuesta inmune del hospedero al inhibir una adecuada presentación de los antígenos virales a los linfocitos T CD4⁺ ayudadores (¡se impide el nexo entre la respuesta innata y la adaptativa!). Adicionalmente, la eliminación de dichas células, facilita la sobreinfección bacteriana.

Todas las cepas que originaron pandemias en el siglo XX (H1N1 en 1918, H2N2 en 1957 y H3N2 en 1968) así como las cepas altamente patogénicas del subtipo H5N1 productoras de influenza aviar hacia fines de la década de 1990 y hasta la actualidad) expresaron PB1-F2. Como fue anteriormente mencionado, se ha reportado que las secuencias nucleotídicas inicialmente obtenidas del nuevo virus Influenza A(H1N1) de origen porcino exhiben una señal de terminación dentro del correspondiente marco de lectura que genera un péptido truncado, cuya secuencia aminoacídica no abarca el dominio de localización mitocondrial, lo que impediría su función pro-apoptótica.

*Se reseñan algunas de las funciones de esta proteína cuando es funcional. Por su capacidad de unión a y secuestro del RNA bicatenario viral (durante la replicación genómica) afecta la capacidad de los receptores celulares de la respuesta inmune innata (como el sensor RIG-1: *Retinoic acid Inducible Gene*) que promueven el **disparo de la síntesis de interferón**. Asimismo, NS1 se une a RIG-1, inhibiendo su actividad directamente. **También NS1 inhibe CPSF30** (*Cleavage and Polyadenylation Specificity Factor*) **un factor que participa en el procesamiento de pre-mensajeros celulares, incluido el del interferón (IFN). A su vez, NS1 inhibe en múltiples sitios la vía de señalización de esta citoquina (IFN- α e IFN- β), así como algunas de las proteínas inducidas por ella, lo que favorece la replicación viral. Además específicamente interactúa con proteínas** tales como la PKR (proteína quinasa dependiente de RNA) que promueve la apoptosis, la proteína RNAsaL (que degrada el RNA viral) y la Oligo-Adenilato sintetasa que activa la RNAsa L.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los datos relativos al nuevo virus Influenza A(H1N1) de origen porcino son preliminares y provisorios. Su próxima evolución en la naturaleza respecto a su transmisibilidad, antigenicidad y (eventual) resistencia a antivirales es impredecible. Las observaciones epidemiológicas iniciales sugieren que su transmisibilidad es superior a la de virus Influenza estacional y equivalente al límite inferior del rango observado en pandemias anteriores. La virulencia demostrada por este virus emergente en las primeras semanas de penetración en la población humana es equivalente a la del virus causante de la pandemia de 1957, pero inferior al asociado a la pandemia de 1918. La circulación del virus en Argentina y en otros países del hemisferio Sur deberá ser cuidadosamente monitoreada en las próximas semanas / meses ante la inminente llegada de la estación invernal. Se estima que las primeras vacunas específicas para el virus emergente estarían disponibles dentro de los próximos 5-6 meses.



Fig. 9. La pandemia por Influenza A(H1N1) de origen porcino ha sido provisionalmente categorizada como de moderada gravedad. Ello podría cambiar con el devenir del tiempo si uno o más de los tres factores observados en la figura lo hicieren.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. **Carballal G**, Oubiña JR. Virología Médica. Capítulo 5: "Patogenia de las infecciones virales". Mathet V, Oubiña JR; Capítulo 14: "Orthomyxovirus" Savy V, Baumeister EG. 4ta. Edición. Editorial Corpus. En prensa. 2009.
2. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC)**. Update: novel influenza A(H1N1) virus infection – Mexico, March-may, 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009 Jun 5; 58: 585-9, 2009.
3. **Fraser C**, Donnelly CA, Cauchemez S, et al. Pandemic Potential of a Strain of Influenza A (H1N1) : Early Findings. Science. 2009 May 14. [Epub ahead of print].
4. **Gallaher WR**. Towards a sane and rational approach to management of Influenza H1N1 2009. Virol J. 2009 May 7;6(1):51. [Epub ahead of print].
5. **Miotto O**, Heiny A, Tan TW, et al. Identification of human-to-human transmissibility factors in PB2 proteins of influenza A by large-scale mutual information analysis. BMC Bioinformatics 9:S18, 2008.
6. **Mossad SB**. The resurgence of swine-origin influenza A (H1N1). Cleve Clin J Med 76: 337-43, 2009.
7. **Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team**. Emergence of a Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus in Humans. N Engl J Med. 2009 May 7. [Epub ahead of print].
8. **Rambaut A**, Pybus OG, Nelso MI, et al. The genomic and epidemiological dynamics of human influenza A virus. Nature 453: 615-619, 2008.
9. **Salomon R**, Webster RG. The influenza virus enigma. Cell 136: 402-410, 2009.
10. **Smith GJ**, Vijaykrishna D, Bahl J, et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. Nature. 2009 Jun 11. [Epub ahead of print].
11. **Van Hoeven N**, Pappas C, Belser JA, et al. Human HA and polymerase subunit PB2 proteins confer transmission of an avian influenza virus through the air. Proc Natl Acad Sci U S A. 106:3366-3371, 2009.
12. **Zell R**, Krumbholz A, Eitner A, et al. Prevalence of PB1-F2 of influenza virus. J Gen Virol 88:536-546, 2007.