

CAPITULO 1

ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN DE VIRUS

La palabra virus significa veneno y corresponde a la denominación que se le dio originalmente a fines del siglo XVIII a ciertas sustancias que tenían poder patógeno. Posteriormente, con el descubrimiento de las bacterias y la formulación de la teoría de los gérmenes patógenos, se pudo reconocer que existían ciertas organizaciones más pequeñas que las bacterias, que también poseían poder patógeno, y que eran capaces de atravesar filtros que retenían a las bacterias (virus filtrable). Con el advenimiento de la microscopía electrónica se pudo definir que estas entidades correspondían a elementos particulados que se denominaron virus.

CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS

1.- Los virus son organizaciones macromoleculares constituidas fundamentalmente por ácidos nucleicos y proteínas; en ocasiones algunos virus pueden poseer además lípidos e hidratos de carbono. El ácido nucleico que poseen constituye el genoma viral. Las proteínas virales están codificadas por el genoma viral y suelen ser pocas en cuanto a su naturaleza, pero se encuentran en cantidades apreciables en la partícula viral.

2.- Los virus corresponden a partículas submicroscópicas de tamaño variable; entre los virus más pequeños se encuentran los parvovirus que producen el eritema infeccioso y entre los más grandes están los virus pox responsables de la viruela. La Figura 1-1 muestra una estimación comparativa de los tamaños de virus y de una bacteria prototipo como la *E. coli*.

3.- Son agentes infecciosos con carácter estrictamente intracelular; los virus son capaces de reconocer células e infectarlas. Esta propiedad se debe a la presencia de receptores en las células y a la de proteínas ligandos o de infectividad en los virus (antireceptores), que permiten la unión del virus a la célula y su posterior penetración

4.- Los virus son parásitos estrictamente intracelulares. Como no poseen la capacidad de multiplicarse o de sintetizar por sí mismos sus propios componentes, al infectar las células vivas aprovechan la maquinaria metabólica celular para realizar la síntesis de sus componentes, y de esta manera replicarse generando progenie viral.

5.- Los virus son microorganismos capaces de infectar diversos tipos celulares en los organismos vivos. Pueden infectar bacterias, células vegetales y animales. Las infecciones naturales por virus permiten las interacciones de material genético viral y celular; esto puede afectar la expresión génica de las células y contribuir a la variabilidad de las especies y, por ende, a su desarrollo y evolución.

En la naturaleza también existen los denominados "Virus-like agents" como transposones, plásmidos, viroides, priones que comparten algunas características de los virus.

Estos elementos son capaces de autoreplicarse independientemente del genoma celular. Por ejemplo los plásmidos de una hebra de DNA circular se replican en forma similar a los virus DNA de una hebra. A diferencia de los virus, los plásmidos no son patogénicos y se transfieren por conjugación entre células.

Los viroides son RNA circulares desnudos de una hebra, que causan enfermedades en plantas. Se presume que se replican por intermedio de la RNA polimerasa del hospedero y causan efectos patogénicos al interferir con el metabolismo de la célula. En humanos el agente Hepatitis delta, dependiente de Hepatitis B, es estructuralmente similar a un viroide. El agente delta codifica una proteína estructural.

Los priones son agentes infectivos de naturaleza proteica que son patogénicos en vertebrados.

ESTRUCTURA VIRAL

Los virus están constituidos por macromoléculas, las cuales se organizan de tal manera que le confieren sus propiedades biológicas y físico-químicas. Estos componentes moleculares son los siguientes:

- Ácido nucleico: DNA o RNA.
- Proteínas.
- Lípidos.
- Hidratos de carbono.

Estos componentes se organizan constituyendo las partículas virales.

El conjunto de ácido nucleico y proteínas es altamente organizado y recibe el nombre de nucleocápsula. Esta estructura se ordena de acuerdo a ciertas simetrías, adoptando las siguientes formas:

- a) Icosaedro: consiste en un poliedro regular de 20 caras planas triangulares.
- b) Helicoide: la organización corresponde a una estructura en espiral o hélice.
- c) Compleja: en este tipo de nucleocápsula no hay una simetría regular.

La estructura de la nucleocápsula le confiere a las partículas virales diversas propiedades, como estabilidad termodinámica y capacidad de almacenar un máximo de masa en el menor volumen. La organización física de los virus como partículas se denomina virión, que corresponde a la partícula viral completa extracelular. Las proteínas virales se agrupan en unidades estructurales llamadas protómeros. Estas unidades estructurales, que pueden estar formadas por una o varias proteínas, se ordenan entre sí para formar los capsómeros que corresponden a las unidades morfológicas observadas por microscopía electrónica que integran la nucleocápsula.

Algunos virus poseen lípidos e hidratos de carbono que se organizan en bicapas de lípidos con glicoproteínas insertas, en la misma organización que las membranas celulares.

Como se puede apreciar, no existe una amplia variedad de estructuras virales, sino que de preferencia los virus presentan estructuras características que permiten su identificación y caracterización morfológica (Figura 1-2).

Genoma viral. El genoma viral está constituido por DNA o RNA. El genoma contiene la información genética (genes) necesaria para la síntesis de las proteínas virales. El análisis y secuenciación de los ácidos nucleicos virales permite conocer la naturaleza de las proteínas de un virus. En algunos virus se conoce su secuencia nucleotídica completa y en otros sólo la naturaleza de ciertos genes. Es así como se puede apreciar que los ácidos nucleicos virales tienen ciertas características en cuanto a su organización; algunos poseen secuencias nucleotídicas repetidas e invertidas en determinadas regiones del ácido nucleico (Figuras 1-3 y 1-4).

Proteínas virales. Las proteínas que forman parte de la estructura viral están codificadas en el genoma viral; no son muchas porque los genomas virales son pequeños. Algunos virus, como el de la polio, poseen 4 proteínas y otros más complejos, cerca de 100 (ej: pox). Las proteínas virales presentan ciertas propiedades y son responsables de diversas funciones biológicas. Algunas de ellas corresponden a la infectividad, protección del genoma viral, actividad enzimática, capacidad patogénica, virulencia, inmunogenicidad y antigenicidad. Existe una relación entre la estructura y la función de estas proteínas. Variaciones y cambios en las proteínas virales como consecuencia de cambios en el genoma dan origen a variantes genéticas que determinan tipos y cepas, las que presentan distintas propiedades biológicas y patogénicas. La manipulación controlada de los genomas virales y la obtención de partículas virales con proteínas que presentan determinadas características, han sido fundamentales en la obtención de vacunas.

NOMENCLATURA

El nombre de los virus obedece a distintas consideraciones. En algunos casos éste se debe a la enfermedad que ellos producen, por ejemplo, el virus polio se llama así porque produce la poliomielititis. En otros casos se debe a palabras compuestas como "papova", que corresponde a la contracción de los nombres papiloma, polioma y vacuolante; otras veces, al nombre de los descubridores, como el virus de Epstein-Barr. También puede deberse a las características estructurales, como los coronavirus. Algunos poseen un nombre derivado del lugar donde se detectaron por primera vez, como el virus Cocksackie o Norwalk.

CLASIFICACIÓN VIRAL

El ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) ha propuesto un sistema universal de clasificación viral. El sistema utiliza una serie de taxones como se indica a continuación:

Orden (-virales).

Familia (-viridae)

Subfamilia (-virinae)

Genero (-virus)

Especie ().

Los virus se agrupan en familias y subfamilias cuyo nombre se ha latinizado; por ejemplo, los virus herpes se agrupan en la familia *Herpesviridae*. Las subfamilias tienen el sufijo “*nae*”, Ej: *Herpesvirinae*. El otro tipo de agrupación es el género, que no se nombra en forma latinizada, por ejemplo, *herpesvirus*.

Por ejemplo, el virus Ebola de Kikwit se clasifica como:

- Orden: Mononegavirales

Familia: Filoviridae

Género: FilovirusEspecie:

virus Ebola Zaire

Utilizando los siguientes criterios es posible identificar la familia y en algunos casos el genero de un determinado virus (Figuras 1-3, 1-4 y 1-5 y Tabla 1-1):

a) Tipo y naturaleza del genoma.

b) Morfología de la partícula: simetría de la nucleocápsula, presencia de envoltura.

c) Hospedero

Ingresa a los sitios WEB indicados en la bibliografía para ver como clasificar un virus.

Otro sistema de clasificación utilizado es el propuesto por Baltimore, que se basa en el tipo de mecanismo de replicación viral. Este sistema se analizará en el capítulo 2.

CUESTIONARIO

1. - Mencione tres características de los virus.
2. - Mencione los componentes macromoleculares que constituyen los virus.
3. - Defina : nucleocápsula, unidad estructural, capsómeros, envoltura.
4. - ¿Qué función cumple la nucleocápsula?
5. -¿ Qué simetrías puede presentar la nucleocápsula viral?
6. - Defina virión.
7. - Esquematice un virus con estructura de nucleocápsula helicoidal y con manto, indicando los componentes moleculares. ¿Qué virus patógenos humanos presentan esta estructura?
8. - ¿Qué tipos de ácidos nucleicos poseen los virus?, ¿cuál es su función?
9. - Mencione cuatro propiedades y/o funciones de las proteínas virales.
- 10.- Mencione los criterios utilizados en la clasificación viral.
- 11.- Haga un esquema que represente al DNA de los virus herpes.
- 12.- Mencione las principales características estructurales de un retrovirus.
- 13.- ¿Qué características tiene el RNA de los reovirus?

BIBLIOGRAFÍA

1. Carballal G. Virología: aspectos generales. En: Carballal G, Oubiña JR. Virología Médica. Buenos Aires: El Ateneo, 1991; 1- 23.
2. Collier L, Oxford J. General properties and classification of viruses. En: Collier L, Oxford J. Human Virology. Oxford: Oxford University Press, 2000; 7- 16.
3. Fields B. Biología de los virus. En: Schaechter M, Medoff G, Eisenstein B, Guerra H. Microbiología, 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1994.; 415- 436.
4. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Propiedades generales de los virus. En: Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Microbiología Médica. México: El Manual Moderno, 1992; 397- 420.
5. Meissner C, Schaechter M. Introduction to the viruses. En: Schaechter M, Medoff G, Schlessinger D. Mechanisms of microbial disease. Baltimore: Williams & Wilkins International, 1989; 377- 392.

Sitios WEB

Sitio general de virología con diversas conexiones

<http://virologia.ua.es>

Clasificación viral

<http://www.uct.ac.za/microbiology/tutorial/classif.htm#Introduction>

¿Cómo clasificar un virus? <http://www.uct.ac.za/microbiology/tutorial/ictvkey.htm>

<http://www.uct.ac.za/microbiology/tutorial/viruskey.htm>

CAPITULO 2 REPLICACION VIRAL

Los virus son incapaces de multiplicarse por sí mismos porque no pueden realizar la síntesis de sus componentes macromoleculares (ácidos nucleicos y proteínas), debido a que carecen de los elementos fundamentales para realizar estos procesos, tales como: organelos, fuente de energía, sistemas multienzimáticos, moléculas pequeñas o precursores y otros. La célula viva constituye un sistema capaz de realizar por sí misma la síntesis de macromoléculas de importancia biológica; de aquí que los virus pueden replicarse en ella, ya sea en forma natural o experimental, utilizando elementos celulares para sintetizar los componentes virales, dando así origen a la progenie viral. Esta capacidad de multiplicarse en las células vivas explica el carácter de parásito intracelular estricto de los virus.

La naturaleza del ácido nucleico viral determina la secuencia de eventos necesarios para la multiplicación de los virus. Como el genoma viral se encuentra protegido por una o más cubiertas proteicas, la replicación viral se iniciará una vez que éste se libere, pudiendo entonces interactuar con la maquinaria metabólica celular, expresando su información genética en síntesis de proteínas. Estas son necesarias para la producción de nuevas moléculas de ácido nucleico viral, de otras proteínas no estructurales, así como de proteínas que formarán parte de la estructura viral (proteínas estructurales). Los componentes virales, ácidos nucleicos y proteínas así sintetizados, se ensamblan formando viriones que al liberarse de la célula inician nuevos ciclos infectivos y de replicación.

La capacidad de los virus para controlar los procesos metabólicos celulares depende de la naturaleza del virus y de la célula huésped. Muchos virus logran inhibir casi totalmente el metabolismo celular, permitiendo la síntesis de viriones; en otros casos, los procesos celulares no se alteran significativamente durante la replicación viral. Como resultado de la interacción virus-célula huésped, un mismo virus puede establecer en diferentes células: a) una infección productiva, b) un estado de latencia o c) una transformación celular. Por ahora se hará referencia sólo al ciclo de infección productiva.

ETAPAS DE LA REPLICACIÓN VIRAL

El proceso de multiplicación o replicación viral se caracteriza por ser altamente organizado. La aplicación de diferentes metodologías en el estudio de modelos de replicación viral han permitido esquematizar las etapas del proceso. Entre las metodologías utilizadas se mencionan: la utilización de métodos inmunológicos y de ingeniería genética para identificar receptores celulares, Utilización de marcaje radiactivo para determinar la síntesis y el destino de los componentes virales, microscopía electrónica y otras técnicas para la observación de la estructura de las partículas virales en el interior de la célula y su interacción con estructuras de la célula.

La replicación viral puede esquematizarse en las siguientes etapas (Figura 2-1):

- I. Adsorción.
- II. Penetración.
- III. Denudamiento o liberación del genoma viral.
- IV. Biosíntesis de macromoléculas virales.
- V. Maduración o ensamblaje.
- VI. Liberación de las partículas virales.

Estas etapas de la replicación viral son comunes a todos los virus. Sin embargo existen diferencias en los mecanismos y sitios de síntesis, dependiendo de la estrategia utilizada por el virus.

ADSORCIÓN

Los virus animales carecen de elementos especializados que les permitan unirse a las células que infectan, adsorbiéndose a ellas mediante uniones a través de grupos estéricos complementarios presentes en la membrana citoplasmática llamados receptores, los que interactúan con proteínas ligando presentes en la superficie externa del virión. La interacción virus-célula huésped es altamente específica explicando el rango de huésped viral; por ello un mismo virus no puede infectar en forma natural a todas las células de un mismo organismo ni a todas las especies animales. Por ejemplo, los tres tipos de virus de la poliomielitis pueden adsorberse a las células de primates, pero no a otros mamíferos ni a animales de sangre fría, ya que sólo los primates poseen receptores específicos para estos virus. Además, dentro de una misma especie existen tejidos y órganos cuyas células poseen diferentes receptores virales, lo que explica el tropismo viral. En último término, la presencia y calidad de los receptores depende de la especie del huésped, tipo de tejido, estado fisiológico, edad, etc. Sin embargo es importante destacar que la presencia del receptor no es el único factor que influye en que un virus se replique en un determinado tipo de célula. Por ejemplo algunos cultivos de células de primates expresan el receptor de poliovirus, pero no pueden ser infectadas. Asimismo, el ácido siálico, receptor del virus de influenza se encuentra en varios tejidos, sin embargo la replicación viral está restringida solo a algunos tejidos.

La presencia del receptor determina la susceptibilidad de la célula al virus. Sin embargo, para que ocurra la replicación, se requiere que la célula sea además permisiva. En otras palabras, el éxito de la infección por un virus en particular requiere que la célula sea susceptible y permisiva.

La primera etapa en la adsorción viral depende de la probabilidad de que el virión y la célula se encuentren, por lo que la concentración de viriones y células es fundamental. Se ha demostrado en cultivos celulares que la adsorción reversible, es independiente de la temperatura, pudiendo efectuarse a 4°C, pero requiere la presencia de ciertos iones que estabilizan la unión electrostática virus-célula. El aumento de la fuerza iónica permite la elución de los virus ya adsorbidos, los que se recuperan con capacidad infectiva cuando la adsorción se realiza a baja temperatura. Esta etapa de adsorción es inhibida por los

anticuerpos neutralizantes, los que al unirse a los viriones impiden su interacción con los receptores celulares.

PENETRACIÓN

Los virus penetran al interior de la célula por fusión de su membrana plásmatica con el manto del virus o por un proceso de endocitosis denominado viropexia. En este último, la partícula viral es rodeada por la membrana citoplasmática, permitiendo la formación de una vesícula e invaginación. De esta manera, los virus alcanzan una posición intracelular, pero permanecen dentro del endosoma en donde pueden ser observados a medida que se libera el genoma viral.

Todas las evidencias obtenidas hasta ahora señalan que los virus sin manto penetran como partícula viral completa; los virus que poseen manto liberan su nucleocápsula, ya sea por fusión del manto con la membrana celular o por su degradación a nivel del endosoma, de modo que sólo la nucleocápsula de estos virus se encuentra presente en los sitios donde tiene lugar la replicación viral (Figura 2-2).

La etapa de penetración, a diferencia de la adsorción, se caracteriza por ser dependiente de la temperatura e irreversible

DESNUDAMIENTO

En esta etapa se libera el material genético del virus por acción de enzimas celulares que hidrolizan las proteínas capsulares. La cápsula de la mayoría de los virus sin manto es degradada por enzimas lisosomales. En los virus que poseen manto, las proteínas de éste se pierden durante la penetración, mientras que las proteínas de la cápsula se degradan posteriormente por acción de las enzimas hidrolíticas lisosomales. La transferencia de nucleocápsulas, parcialmente hidrolizadas, desde los lisosomas al citoplasma confiere cierta protección al DNA de algunos virus, como sucede con los adenovirus.

El desnudamiento de los virus pox constituye un proceso único cuya elucidación tardó años de investigación. Los virus pox pierden su manto externo tan pronto como alcanzan el citoplasma, pero el desnudamiento de su genoma demora cierto tiempo, ya que necesita sintetizar una enzima que hidrolice su cápsula proteica. Para lograrlo utilizan la enzima que trae consigo el virión, la RNA polimerasa DNA-dependiente, que transcribe parte de su genoma a RNA mensajero, el que se traduce sintetizándose la enzima "*desnudante*", encargada de liberar al genoma viral. En estos virus de estructura compleja, parte del material genético viral es transcrito mientras se encuentra asociado a su cubierta proteica interna.

Uno de los hallazgos más importantes en el estudio de la replicación viral ha sido el determinar que en muchos virus especialmente virus DNA y RNA(+) el ácido nucleico viral intacto es suficiente para dirigir la síntesis de progenie viral en células competentes. Así se ha demostrado que mediante transfección del ácido nucleico se pueden generar partículas infectivas, incluso en células que normalmente no son susceptibles por no poseer receptores citoplasmáticos que permitan la adsorción viral.

BIOSÍNTESIS DE MACROMOLÉCULAS VIRALES

La replicación de los virus involucra la síntesis de sus componentes fundamentales intracelularmente, aprovechando la maquinaria metabólica celular. La síntesis de ácido nucleico y proteínas virales se realiza en forma análoga a la celular. La información genética de toda célula viva está contenida en el DNA, y puede ser transferida a los descendientes mediante su duplicación; la expresión de la información genética requiere la transcripción del DNA a RNA mensajero, el que luego se traduce en los ribosomas celulares, donde tiene lugar la síntesis de proteínas. Al igual que la célula, los virus sintetizan sus componentes duplicando su información genética, la que luego se expresa en síntesis de proteínas virales. Para este fin, se producirá un bloqueo del metabolismo celular, se sintetizarán enzimas específicas para replicar el genoma viral, se replicará el ácido nucleico viral y finalmente se sintetizarán las proteínas virales estructurales, las que junto a éste formarán las nucleocápsulas y posteriormente los viriones. Estos procesos se pueden esquematizar del siguiente modo:

CÉLULA

DNA_c ---> m RNA_c ---> proteínas_c

DNA_c ---> DNA_c

VIRUS

DNA_v ---> mRNA_v ---> proteínas_v

DNA_v ---> DNA_v

RNA_v ---> RNA_v

RNA_v ---> DNA_v

REPLICACIÓN VIRUS DNA. Los genes de los virus DNA se transcriben y traducen igual que en los sistemas biológicos celulares. La replicación viral implica la expresión secuencial de sus genes durante períodos de tiempo diferentes de modo que parte del genoma, liberado en la etapa de desnudamiento, se transcribe primero a RNA mensajero temprano. Este proceso ocurre generalmente a nivel nuclear, sintetizándose RNA mensajero viral a partir del

DNA viral mediante la enzima RNA polimerasa DNA-dependiente y ribonucleótidos trifosfatos: ATP, CTP, GTP y UTP, provistos por la célula. El RNA mensajero formado se traduce en el citoplasma; la traducción consiste en la síntesis de proteínas, dirigidas por este mensajero, utilizando para ello ribosomas, aminoacil-tRNAs, factores proteicos, GTP y ATP celulares. Las proteínas sintetizadas se denominan tempranas, debido a que son las primeras que se detectan en la célula infectada. Sus funciones son diversas: unas son inhibitorias del metabolismo celular, otras son enzimas necesarias para sintetizar DNA viral, como la DNA polimerasa DNA-dependiente, la timidina quinasa, fosfatasa, etc. La síntesis de DNA viral requiere, en algunos virus, de una DNA polimerasa codificada por el virus, deoxirribonucleótidos trifosfatos: dATP, dGTP, dCTP y dTTP y el DNA viral que actúa como molde. La síntesis de DNA viral biténico (doble hebra) de los virus pox, herpes, adeno y papova se realiza siguiendo el esquema de duplicación semiconservativa. Con la síntesis de DNA viral, los virus amplifican su información genética, asegurando así su multiplicación. A continuación se transcriben los otros genes virales, sintetizándose RNA mensajeros tardíos que se traducen a proteínas estructurales. Sólo los virus del grupo pox sintetizan DNA viral en el citoplasma, mientras que los otros virus DNA sintetizan su genoma en el núcleo celular.

i) **DNA** ---> mRNA_{temprano} ---> **PROTEÍNAS** tempranas

ii) **DNA** ---> **DNA**

iii) **DNA** ---> mRNA_{tardío} ---> **PROTEÍNAS** tardías

REPLICACIÓN DE VIRUS RNA Los virus RNA constituyen un sistema biológico único, dado que la información genética está contenida en esta macromolécula. De acuerdo a la naturaleza del RNA viral se pueden diferenciar 3 tipos de replicación:

1. **Virus cuyo RNA es monoténico (una sola hebra) y su información genética presenta polaridad positiva.** Este RNA es capaz de servir directamente como RNA mensajero, dirigiendo la síntesis de proteínas virales *in vitro* (por ejemplo, el virus de la poliomiéltis). En este caso, el RNA actúa como RNA mensajero policistrónico (que tiene información para varias proteínas). Cuando se traduce un RNA mensajero policistrónico se sintetiza un sólo polipéptido precursor, que rápidamente se rompe para dar origen a dos o más proteínas, las que a su vez experimentan rupturas posteriores, dando lugar a proteínas estructurales y no-estructurales. Estas últimas son las encargadas de replicar al RNA viral, de inhibir la síntesis de componentes celulares, etc. La enzima que cataliza la replicación del RNA viral es una RNA polimerasa RNA-dependiente, codificada el virus, puesto que las células vivas no son capaces de realizar el proceso de síntesis de RNA a partir de RNA.

El RNA viral se sintetiza previa aparición de una forma intermedia de replicación, en la que la hebra de RNA viral con polaridad positiva, sirve como

molde para la transcripción de su información genética a una hebra complementaria de polaridad negativa. A su vez, la cadena complementaria sirve como molde para la síntesis de nuevas hebras con polaridad positiva, las que son idénticas al RNA genómico viral. La hebra con polaridad positiva realiza, por lo tanto, las siguientes funciones: sirve como molde para la replicación de nuevas moléculas de RNA, constituye el material genético de la progenie viral y actúa como RNA mensajero, dirigiendo la síntesis de proteínas codificadas por el virus. Los procesos fundamentales de la replicación de virus RNA son:

i) **RNA + ---> PROTEÍNAS**

ii) **RNA + ---> RNA - ---> RNA +**

2. Virus cuyo RNA es monoténico, pudiendo estar o no fragmentado y cuya polaridad es negativa. En este caso el RNA viral no actúa como RNA mensajero, dado que su información tiene polaridad negativa (ej: virus influenza). El problema de la síntesis de ácido nucleico y proteínas virales se resuelve con la síntesis de un RNA de polaridad positiva que sirve como molde para la síntesis de nuevas moléculas de RNA con polaridad negativa, las cuales constituyen el RNA genómico y además actúan como RNA mensajero en la síntesis de proteínas virales. Para sintetizar el RNA de polaridad positiva que es complementario al RNA genómico, se utiliza una RNA polimerasa RNA-dependiente, enzima que forma parte del virión y que posteriormente es sintetizada como una proteína viral, puesto que la información genética para esta proteína está contenida en el RNA viral. Estos procesos se resumen del modo siguiente:

i) **RNA - ---> RNA +**

ii) **RNA + ---> PROTEÍNAS**

iii) **RNA + ---> RNA -**

3. Virus cuyo RNA es biténico, fragmentado.. Estos traen consigo una RNA polimerasa RNA-dependiente que transcribe una hebra del RNA viral I, sintetizando RNA mensajeros del mismo tamaño y complementarios al RNA parental, que dirigen la síntesis de proteínas virales. El virus genera además otras copias de RNA polimerasa RNA-dependiente que es la encargada de sintetizar RNA viral de doble cadena, el que constituye el material genético de los viriones; para esto utiliza como molde las hebras de RNA sintetizadas por la enzima estructural del virión. Ejemplo, reovirus.

4. Retrovirus. Los retrovirus poseen dos copias de un RNA monoténico. La información genética contenida en estos RNA genómicos es copiada en reverso para generar una copia de DNA viral de doble hebra, que se integra al genoma o DNA celular, comportándose como otros genes celulares, dando origen a un mRNA y proteínas virales. Para realizar el proceso de síntesis de este DNA viral o transcripción *inversa*- es decir, síntesis de DNA a partir de RNA-, estos retrovirus poseen una enzima DNA polimerasa RNA dependiente, llamada comúnmente

transcriptasa *inversa*. La transferencia de información genética ocurre de acuerdo a:

i) RNA + ---> DNA - ---> DNA +-

ii) DNA +- ---> mRNA ---> PROTEÍNAS

iii) DNA +- ---> RNA _v

La multiplicación de la mayoría de los virus cuyo genoma es RNA se realiza en el citoplasma, con excepción de los mixovirus y retrovirus, que requieren del núcleo celular para una de sus etapas de replicación.

SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE BALTIMORE

Basado en la información obtenida por el análisis de las vías en que la información genética viral es expresada y en el papel fundamental del mRNA David Baltimore propuso un nuevo sistema de clasificación. En este sistema los virus son agrupados de acuerdo a su sistema genético relacionando el genoma viral y el mRNA. (Esquema nuevo). La ventaja de este sistema es que permite rápidamente visualizar las etapas en que ocurre la replicación de un determinado virus.

SINTESIS DE PROTEINAS

Todos los virus utilizan los ribosomas celulares para traducir los mRNAs virales. Normalmente durante la síntesis de proteínas el mensaje es leído desde el primer codon de iniciación AUG en forma continua. Sin embargo esta continuidad puede ser interrumpida por la inserción o delección de bases lo que produce un cambio en el marco de lectura Frameshift o la aparición de un codón de término. Por este mecanismo los virus aumentan el número de proteínas a partir de la misma información génica. HIV y paramixovirus utilizan esta estrategia.

Algunas proteínas virales, como las del manto, pueden ser modificadas posteriormente por glicosilación, fosforilación o acilación antes de alcanzar el sitio de ensamblaje. Otras proteínas sintetizadas como poliproteínas deben ser procesadas por proteasas virales o celulares. Los virus RNA de una hebra (+) como ser polio, rinovirus y flavivirus utilizan esta estrategia.

MADURACIÓN O ENSAMBLAJE

Esta etapa consiste en la formación de la cápsula proteica y su asociación con el genoma viral. Se conoce relativamente poco del ensamblaje viral. Estudios de microscopía electrónica revelan que las cubiertas proteicas se concentran en áreas donde se ensamblan en torno al material genético viral. Los virus DNA, excepto los pox, se ensamblan en el núcleo, formándose partículas inmaduras, las que alcanzan su madurez en localizaciones citoplasmáticas más por diferenciación o reordenamiento molecular, que por adquisición de nuevas

cubiertas proteicas. El ensamblaje viral es ineficiente, produciéndose además partículas virales aberrantes, no-infectivas. El proceso de maduración es asincrónico y los virus ya maduros permanecen asociados a la célula huésped hasta que ésta se lisa, liberando miles de partículas virales, las cuales inician nuevos ciclos infectivos en las células vecinas. La maduración de los virus RNA suele ocurrir en el citoplasma, realizándose con relativa rapidez a partir del material viral sintetizado. En el virus de la poliomielitis, se sabe que primero se ensamblan 2 de los 4 polipéptidos capsulares, con un tercer polipéptido, precursor de los otros 2 restantes, formándose una procápsula. Posteriormente el RNA viral, al asociarse a la procápsula, desencadena la ruptura del precursor, originando a los 2 polipéptidos que faltaban para completar la dotación de cada capsómero, y al hacerlo se forma el virión completo. Los viriones formados se acumulan por corto tiempo intracelularmente.

LIBERACIÓN

La forma en que los virus salen de las células infectadas depende del tipo de virus. Los virus DNA desnudos, por ensamblarse en el núcleo, no alcanzan la superficie celular con facilidad, se acumulan por algún tiempo dentro de la célula, siendo liberados por lisis o destrucción celular. Los virus RNA sin manto se ensamblan en el citoplasma, liberándose en forma sincrónica por lisis celular, que es llevada a cabo por las enzimas hidrolíticas lisosomales. Durante la infección con virus líticos, la membrana lisosomal se torna en una primera etapa más permeable, siendo finalmente destruida, vaciando entonces su contenido enzimático.

Los virus que poseen manto, ya sea DNA o RNA, adquieren esta envoltura por el proceso de yemación. En este proceso interactúa la nucleocápsula con las proteínas del manto viral, las que se han acumulado a nivel de las membranas de la célula. Los virus influenza, parainfluenza y otros, maduran en la membrana citoplasmática; los herpes lo hacen en la membrana nuclear. Al microscopio electrónico se observa que la membrana citoplasmática “yema” en ciertas zonas, formándose una esfera o yema que rodea la nucleocápsula, de modo que ésta sale envuelta con la membrana celular a la que ya están adosadas las proteínas del manto viral. La yemación es, por lo tanto, un proceso inverso al de la viropexia. Las proteínas del manto viral son codificadas por el virus, mientras que los lípidos son similares a los de la célula huésped; hasta ahora, todas las evidencias señalan que éstos son proporcionados por la célula. Los carbohidratos del manto se unen por glicosilación a las proteínas del manto, formándose glicoproteínas que se acumulan en las membranas celulares. Para la formación de estas glicoproteínas se utilizan los sistemas enzimáticos glicosilantes de la célula huésped. Los componentes lipídicos del manto se adquieren durante la yemación misma, de modo que la composición lipídica del manto refleja la de la membrana celular. Luego, si un mismo virus se hace crecer en dos células diferentes tendrá diferentes lípidos en su manto.

El proceso de yemación es relativamente selectivo, debido a que en éste no se adquieren normalmente otros elementos propios de la membrana celular, como proteínas. Los virus con manto son liberados a medida que se producen; los virus influenza salen de la célula a medida que yeman desde la membrana citoplasmática. Algunos arbovirus yeman en vacuolas intracitoplasmáticas y su

liberación requiere fusión de éstas con la membrana citoplasmática. En ambos casos este proceso permite la mantención de la viabilidad celular, incluso por días, liberándose viriones en forma continua. Los virus herpes que maduran en la membrana nuclear, son liberados hacia el citoplasma, alcanzando el espacio extracelular a través de canalículos citoplasmáticos o cisternas.

Los virus del grupo pox son los únicos virus que no adquieren su envoltura externa por yemación, ya que todos los componentes del mismo, incluso los lípidos, son codificados por el genoma viral. El manto de estos virus es complejo, representando más bien una envoltura externa que un manto. Como su genoma codifica aproximadamente 400 genes tiene información que le permite realizar, además, un proceso de morfogénesis, en el cual se observa primero la formación de un nucleoide que contiene el DNA viral, con dos cuerpos laterales donde se alojan las enzimas que traen consigo estos virus, y posteriormente se adicionan las otras envolturas en forma sucesiva hasta completar la partícula viral que es entonces liberada. Todo el proceso de replicación de los virus pox ocurre en localizaciones citoplasmáticas que asemejan “factorías”.

FASE DE ECLIPSE

Se conoce con el nombre de eclipse al período de tiempo en el cual no se detectan partículas virales infectivas dentro de la célula. Esta fase ocurre después del inicio de la infección y demora algunas horas. La fase de eclipse comprende: desnudamiento del genoma viral, síntesis de ácido nucleico y proteínas virales,

Virología Médica 22

finalizando en el ensamblaje cuando aparecen virus infectivos. La duración de la fase de eclipse varía para los distintos virus, siendo relativamente constante para un mismo sistema virus-célula huésped.

CONTROL DE LA REPLICACIÓN VIRAL

Durante la replicación viral, la síntesis de macromoléculas se realiza en forma ordenada y secuencial. Algunas proteínas virales son sintetizadas inmediatamente, otras al término del ciclo infectivo. Algunos genes que codifican funciones tempranas se expresan durante todo el ciclo viral; otros se transcriben sólo al comienzo, para luego permanecer sin expresarse. Esto indica la existencia de sistemas de control que dirigen la síntesis de macromoléculas virales en período de tiempo específico. Se han descrito factores proteicos de iniciación y de terminación de la transcripción en células infectadas con virus DNA. Se conoce también la existencia de proteínas estructurales que bloquearían la iniciación de la transcripción en cierto virus RNA, a fin de que sólo se sintetice el material genético necesario. A pesar de todos estos mecanismos de control, los componentes virales son sintetizados en exceso.

EFICIENCIA DEL PROCESO REPLICATIVO

Todo el proceso de replicación de los virus animales es poco eficiente por las siguientes razones:

- Sólo parte de los virus infectivos se adsorben a la célula huésped.
- Muchos virus que se adsorben se liberan sin penetrar a la célula.
- El genoma viral, al ser liberado de su cubierta proteica queda expuesto a las enzimas hidrolíticas *de los lisosomas*, siendo degradado por nucleasas celulares.
- Se sintetiza un gran exceso de ácido nucleico y proteínas estructurales.
- No todo el material sintetizado se ensambla.
- Durante el ensamblaje se forman partículas virales defectivas, las que aparecen como cápsulas vacías desprovistas de material genético, o bien, como material genético asociado sólo a algunas de las proteínas virales.

- En los virus DNA una cantidad considerable del genoma viral permanece sin asociarse con las proteínas capsulares, ya que éstas se sintetizan en el citoplasma desde donde migran hacia el núcleo, que es el sitio de ensamblaje de la nucleocápsula viral.

Finalmente, de todas las partículas virales formadas, sólo una parte de ellas son infectivas, aun cuando todas aparezcan completas al microscopio electrónico y, pese a las pocas partículas virales que llegan a la célula, se producirá una amplificación por el proceso replicativo, asegurándose su diseminación a las células vecinas.

REPLICACIÓN VIRAL Y VARIACIÓN GENÉTICA

Durante la replicación viral se producen mutaciones en los ácidos nucleicos o genomas virales, que consisten en deleciones, inserciones o cambios en la secuencia de nucleótidos de los DNA o RNA virales, como producto de los errores de copia en la biosíntesis de estos ácidos nucleicos. Estos cambios son más frecuentes en los RNA virales, porque en la síntesis de DNA de los virus hay participación de enzimas celulares que pueden corregir estos errores. Es por esto que los virus RNA parecen existir en mezclas de virus que corresponden a variantes genéticas con sutiles diferencias antigénicas. Estas mezclas o “cuasi especies” tienen una dinámica cambiante en los hospederos durante las infecciones y procesos replicativos, de manera que en ciertas condiciones pueden prevalecer determinadas variantes genéticas de un mismo virus, estando aún presentes las otras, pero en menor cantidad. Presiones selectivas de tipo inmunológico, como es la inmunidad específica, y condiciones ambientales determinan fuertemente la evolución de los virus. Los virus HIV, VRS constituyen un ejemplo de gran variabilidad debido a mutaciones.

Otra forma de variación genética que puede ocurrir en los procesos replicativos es el cambio de la estructura genómica por recombinación, la que se produce por intercambio y unión de fragmentos o regiones de los ácidos nucleicos virales correspondientes a un gen, o a regiones de dos virus infectantes del mismo tipo. La recombinación puede dar origen a la aparición de nuevos virus con características diferentes a los parentales.

Algunos virus RNA, como influenza y reovirus, que poseen RNA genómicos fragmentados, pueden intercambiar sus genes, originando los denominados reordenantes, los que presentan características genéticas diferentes de los parentales, dado que pueden presentar variaciones en tan sólo uno de sus genes.

La variación genética que se genera por estos tres mecanismos da cuenta de la capacidad evolutiva y de adaptación de los diferentes virus, así como también permite explicar la aparición de cepas que pueden ir cambiando en sus propiedades patogénicas y de virulencia. Asimismo, este conocimiento ha comenzado a utilizarse en forma práctica en el manejo genético de los virus con el fin de obtener cepas virales adecuadas para ser usadas como vacunas.

BIBLIOGRAFIA

1. Campos R. Replicación y genética viral.. En: Carballal G, Oubiña JR. Virología Médica. Buenos Aires: El Ateneo, 1991.; 25- 32.
2. Collier L, Oxford J. Viral replication and genetics.. En: Collier L, Oxford J. Human Virology. Oxford : Oxford University Press, 2000; 17- 26.
3. Fields B. Biología de los virus. En: Schaechter M, Medoff G, Eisenstein B, Guerra H. Microbiología. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1994; 415- 436.
4. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Propiedades generales de los virus. En: Jawetz E, Melnick J, Adelberg E.. Microbiología Médica, 14^a ed. México: El Manual Moderno, 1992; 397- 420.

PATOGENIA

El término patogenia se refiere a los procesos o mecanismos de generación del daño o enfermedad, en este caso, producida por una infección viral. La patogenia puede estudiarse a distintos niveles según se considere como huésped a la célula, al individuo o a la comunidad. Los factores que intervienen en su desarrollo se pueden clasificar en tres grupos que interactúan entre sí:

Factores dependientes del virus:

Son aquellos inherentes a la estructura viral. En efecto, se conoce que sólo ciertos tipos de virus pueden infectar células del aparato respiratorio y por lo tanto originar enfermedades como la bronconeumonía y otros el SNC y producir encefalitis. Incluso dentro de ellos, algunas cepas resultan más virulentas (Ej. adenovirus 3 y 7 en enfermedades respiratorias). También, la cantidad de inóculo viral que reciba un individuo podría determinar si se induce una infección leve o severa.

Factores dependientes del ambiente:

Las condiciones del medio como, temperatura, humedad, salinidad, pH, ventilación, etc., pueden influir en la viabilidad del virus antes de llegar a la célula huésped y afectar su capacidad de infectar. La presencia del manto lipoproteico le confiere mayor labilidad a la partícula viral, por lo tanto los virus desnudos resisten mejor las condiciones ambientales adversas.

Factores dependientes del huésped:

Existen factores innatos como, raza, sexo, estado inmune, estado nutricional y otros, que definen la resistencia o susceptibilidad ante los virus; a través de receptores celulares específicos y capacidad de montar una respuesta inmune.

Otros aspectos relacionados a la patogenia, representan una sumatoria de factores de diverso tipo como: la actividad laboral, viajes, embarazo, conductas sexuales de riesgo, etc., pero son difíciles de clasificar.

PATOGENIA A NIVEL CELULAR

Los virus producen diversas alteraciones al infectar las células. Estas alteraciones se conocen con el nombre de efecto citopatológico (ECP) y ocurren tanto en las células de los organismos vivos como en las células de cultivos *in vitro*. A menudo es tan característico que permite tener una idea aproximada del virus que lo produce; por lo tanto, esta propiedad es importante en el diagnóstico de laboratorio. Las alteraciones que producen los virus en las células infectadas van desde aquellas que no conducen en forma inmediata a la muerte celular, a aquellas que destruyen la célula y que se denominan efectos citocidales.

Principales efectos citopatológicos :

1.- Lisis celular. La destrucción celular se debe fundamentalmente a la detención de la síntesis de macromoléculas celulares, por algunas proteínas virales. Con posterioridad, durante la fase tardía del ciclo replicativo de ciertos virus, (ej: adenovirus, virus polio) la acumulación de grandes cantidades de proteínas capsulares puede producir la inhibición general de los procesos de biosíntesis de

macromoléculas, tanto virales como celulares, ocasionando la lisis y liberación de gran cantidad de viriones.

2.- Fusión celular. Ciertos virus codifican y poseen en su estructura proteínas que tienen la propiedad de fusionar membranas celulares. La presencia de estas proteínas en la superficie de las células infectadas o la presencia de partículas virales entre dos células vecinas permitirá la fusión celular, dando origen a células multinucleadas que reciben el nombre de policariocitos o sincicios. Virus como sarampión, respiratorio sincicial, herpes simplex y algunos retrovirus, poseen este tipo de proteínas y son capaces de pasar de una célula a otra.

3.- Expresión de proteínas y antígenos. Durante la infección viral, en la célula aparecen y desaparecen proteínas, tanto celulares como virales. En la infección por virus con envoltura o manto, aparecen en la superficie de la célula infectada las proteínas del manto. Por ejemplo, en la infección por virus influenza aparece una hemaglutinina que puede unir glóbulos rojos, produciendo un fenómeno de hemadsorción. También es posible detectar estas proteínas mediante el uso de anticuerpos específicos, considerando que son antígenos virales. Ciertos adenovirus y virus papiloma pueden inhibir la expresión de proteínas celulares, como las glicoproteínas de los antígenos mayores de histocompatibilidad (MHC), que se encuentran en la membrana citoplasmática.

4.- Cambios morfológicos. Algunas proteínas virales y otras celulares, inducidas durante la infección, pueden actuar sobre el sistema del citoesqueleto celular. Su alteración origina que la célula se torne redonda, como ocurre con aquéllas infectadas por los virus herpes simplex y adenovirus. Las células que poseen cilios, como las del tracto respiratorio, pierden su funcionalidad ciliar durante la infección por virus influenza.

5.- Cuerpos de inclusión. Corresponden a estructuras que aparecen durante la infección por determinados virus. En algunos casos podrían corresponder a factorías o sitios de agregación de viriones. También poseen la propiedad de teñirse con colorantes ácidos o básicos, presentan una localización intracitoplasmática y/o nuclear y su forma de organización guarda relación con el tipo de virus que la produce, siendo por lo tanto de utilidad en el diagnóstico histopatológico, en células exfoliadas y cortes de tejido. Sin embargo, estas características se deben utilizar con precaución, ya que algunos de estos cuerpos de inclusión pueden ser producidos también por bacterias intracelulares y sustancias tóxicas.

6.- Proliferación celular. Ciertos virus inducen la síntesis de DNA celular y determinan que las células infectadas proliferen antes de provocar su destrucción. Este hecho es fácilmente observable en las infecciones por virus papiloma, responsables de las verrugas, las cuales corresponden a procesos hiperplásicos. En este caso, ciertas proteínas virales inactivan a las proteínas de control de proliferación celular, como la proteína p53.

7.- Alteraciones cromosómicas. Los virus pueden provocar cambios a nivel nuclear que conducen a la desintegración de la cromatina de las células infectadas, como ocurre en las infecciones por virus herpes simplex. Sin embargo, en otros casos las alteraciones nucleares o cromosómicas pueden ser tan sutiles que no se detectan sino por metodologías moleculares, como ocurre en la integración de los genomas virales al genoma celular durante la transformación por ciertos virus, en que la célula permanece viva, pero con algunas de sus propiedades alteradas.

8.- Transformación celular. Ciertos virus DNA y los retrovirus pueden integrar el DNA viral sintetizado durante la replicación en el genoma celular, generando células transformadas que se

comportan *in vitro* en forma semejante a las células cancerosas. La transformación celular corresponde a un fenómeno que ocurre tanto *in vivo* como *in vitro* y ha permitido obtener valiosa información respecto a la etiología de ciertos cánceres. Es notable apreciar que las células transformadas por virus, presentan DNA viral integrado al DNA celular en forma permanente, y también pueden expresar RNA y antígenos virales.

Mecanismos de lesión

El daño en las células infectadas afecta a los tejidos y órganos y constituye uno de los elementos esenciales y determinantes en la patogenia. Este daño se puede producir directamente por la acción de los virus, los que al generar ECP la destruyen, o bien indirectamente, por acción de otros mecanismos, en especial los del sistema inmune. El reconocimiento de alteraciones celulares, como expresión de antígenos en la superficie celular, permite a las células del sistema inmune (especialmente linfocitos T citotóxicos) y a los anticuerpos específicos, (actuando en conjunto con el complemento), destruir a las células infectadas por virus. Este mecanismo se ha denominado también de tipo inmunoalérgico. Otro mecanismo indirecto guarda relación con la activación de genes que controlan la llamada muerte celular programada o apoptosis.

PATOGENIA A NIVEL DEL INDIVIDUO

Los factores que intervienen en la patogenia de las virosis a nivel del individuo son los que se describen a continuación :

Fuentes de contagio. El origen de las enfermedades virales que afectan al hombre son generalmente otros humanos infectados, correspondiendo tanto a casos clínicos como subclínicos. Los casos sintomáticos eliminan mayor cantidad de virus, pero muchas veces están reclusos en su casa, de modo que el contagio está limitado al ambiente que los rodea. Por el contrario, los casos leves o subclínicos excretan virus en menor concentración, pero como prosiguen con sus actividades normales, tienen mayor posibilidad de contagiar a individuos susceptibles. Esto explica la dificultad para controlar la difusión de las infecciones virales respiratorias. Las infecciones a partir de animales son comparativamente poco frecuentes (ej: rabia, dengue, Sind. Pulmonar agudo por virus Andes).

Mecanismos de contagio. Se clasifican en directos o indirectos según la forma de transmitirse desde la fuente de contagio al individuo susceptible de infectarse:

A.- Directos: - con contacto físico.
- sin contacto físico.

Aquellos que necesitan contacto físico entre los individuos para propagarse se favorecen por la presencia de lesiones en las barreras mecánicas, representadas por la piel y las mucosas. Estas actúan como puerta de entrada y en general requieren de un contacto físico relativamente estrecho. Ej: verrugas causadas por virus papiloma.

Las enfermedades virales que no requieren contacto físico entre las personas se contagian a través de las secreciones eliminadas por los individuos infectados, cuyo ejemplo más ilustrativo es el aerosol de partículas (gotitas de Pflügger) que se emiten al hablar, estornudar, etc y que contienen virus. Este mecanismo es muy efectivo y es usado por la mayoría de los virus exantemáticos, respiratorios y otros para propagarse.

B.- Indirectos: - a través de vehículo.

- a través de un vector: - mecánico.

- biológico.

El mecanismo indirecto implica la acción intermediaria de un elemento inerte (vehículo) o vivo (vector) en el contagio. El rol del agua y los alimentos como vehículo de transmisión de infecciones virales entéricas es fácilmente comprensible, y será eficiente en aquellos agentes que estructuralmente estén condicionados para permanecer viables en el medio ambiente, como sucede con los Enterovirus, rotavirus y otros. Los vectores pueden ser mecánicos, si el virus es transmitido en forma pasiva (ej.: moscas en infecciones entéricas), o biológicos, si el virus se multiplica y desarrolla un ciclo reproductivo en ellos (ej: virus Andes).

Puertas de entrada. Los virus pueden ingresar al organismo a través de la infección de uno o varios tejidos. El hecho fundamental para que un órgano constituya una puerta de entrada de la infección es que las células de éstos tengan receptores para permitir la adsorción y penetración de determinados virus. Las puertas de entrada también representan barreras defensivas contra las infecciones, y para actuar como sitio de ingreso del virus tienen que estar alteradas. Ej. la piel habitualmente requiere de una solución de continuidad para permitir el ingreso de un virus. La mucosa respiratoria tiene cilios, secreciones, inmunoglobulinas y enzimas que dificultan la adsorción viral. El pH gástrico es una barrera para los virus que ingresan por vía digestiva.

Vías de diseminación. Dependiendo del modelo de infección viral, el virus puede permanecer en la puerta de entrada o diseminarse a órganos distantes. Las principales formas de diseminación son:

a) Local. Ej. bronconeumonía por virus respiratorio sincicial, verruga por virus papiloma.

b) Sistémica: - sanguínea. Ej. sarampión.

- neural. Ej. rabia.

- vertical. Ej. citomegalovirus

El hecho definitorio de la infección local es que ésta permanece en el sitio de entrada, o se disemina localmente por vecindad, como ocurre en las infecciones respiratorias. Otras infecciones se diseminan desde la puerta de entrada a otros órganos que también son blanco de la infección por vía sanguínea y linfática o neural, siendo la sanguínea la más frecuente.

Existe la vía de diseminación llamada vertical, que se refiere a la transmisión del virus de la madre embarazada a su hijo, hecho que puede ocurrir por varios mecanismos:

1) vía sanguínea transplacentaria. Ej. virus rubéola; HIV, virus hepatitis B.

2) contigüidad a través del canal genital durante el parto. Ej. virus herpes simplex, HIV, virus papiloma.

3) Alimentación con leche materna. Ej. citomegalovirus, HIV.

Organos blancos. La infección viral debe alcanzar los órganos que tienen receptores para los virus infectantes, para poder replicar en sus células. Así, se originan las manifestaciones propias de la enfermedad. Este tropismo de los virus por ciertos tejidos fue utilizado para clasificarlos en: virus neurotropos (Ej. virus polio), virus dermatotropos (Ej. virus sarampión), virus respiratorios (Ej. adenovirus), virus entéricos (Ej. Enterovirus), etc. Posteriormente se demostró que este tropismo no era exclusivo y que muchas veces el fenómeno más interesante no correspondía a su clasificación. Así, por ejemplo, la muerte por sarampión se debe generalmente a bronconeumonía; ya que el aparato respiratorio es uno de sus órganos blanco. La forma más habitual de presentación de una infección por virus polio es la asintomática, en que el virus sólo se replica en el aparato digestivo, sin alcanzar el SNC. Las infecciones por adenovirus pueden provocar muerte por compromiso generalizado de

hígado, pulmón, encéfalo; etc. Y los Enterovirus ECHO y Coxsackie frecuentemente provocan exantemas o meningoencefalitis.

MODELOS DE INFECCIONES VIRALES

A nivel del individuo, el destino final del contacto de un virus con un individuo estará determinado por la interacción de los factores antes mencionados, pudiendo presentarse las siguientes formas evolutivas:

- a) Ausencia de infección.
- b) Infección aguda.
- c) Infección persistente.
- d) Infección transformante.

Infección aguda. La infección es limitada en el tiempo, el virus es eliminado del organismo y el huésped se recupera. A veces puede seguir una evolución grave y producir la muerte, hecho bastante menos frecuente. Esta puede presentarse con o sin síntomas. Ej: resfrío común por rinovirus, laringitis por virus parainfluenza, diarrea por rotavirus.

Infección persistente. Después de la infección inicial sintomática o asintomática, el virus completo o su genoma se mantienen en el organismo por tiempo prolongado -meses, años o de por vida- con o sin manifestaciones clínicas. Según su condición o estado replicativo, la infección persistente puede ser:

a.- Latente. El virus permanece oculto en el organismo por tiempos variables posterior a la infección inicial o primoinfección, pudiendo reactivarse una o más veces. Tanto la primoinfección como las reactivaciones pueden ser con o sin manifestaciones clínicas. Durante la latencia puede detectarse el ácido nucleico viral, pero el virus infectivo no es demostrable. Dependiendo del virus, el sitio de latencia puede o no corresponder a las mismas células en las cuales se replica.

b.- Crónica. El virus infecta en forma clínica o inaparente, y permanece en multiplicación continua, con o sin integración al genoma celular. Esta replicación viral puede demorar años en producir manifestaciones clínicas. Ej. hepatitis crónica por virus hepatitis B, rubéola congénita y HIV.

c.- Lenta. La primoinfección generalmente es asintomática y el virus no es detectable. Años después, se manifiesta como un cuadro severo, progresivo, que en meses lleva a la muerte. Los ejemplos se encuentran en infecciones virales convencionales, como la panencefalitis esclerosante subaguda por virus sarampión, la leucoencefalopatía multifocal progresiva por virus JC y en otros denominados no convencionales, porque todavía no está bien determinada la naturaleza del agente (Ej. kuru).

Infección transformante. En este tipo de infección, el virus es capaz de infectar las células, pero no puede producir partículas virales en forma significativa que implique destrucción celular. Generalmente el genoma viral está presente en la célula, (integrado o episomal), y sólo parte de sus genes se traducen en proteínas virales. Estas originan cambios en las propiedades celulares o transformación celular, a través de la interacción con genes y proteínas celulares, originando un tumor benigno o maligno. Ej: verruga por virus papiloma 2, carcinoma cervico uterino por virus papiloma 16 – 18.

CUESTIONARIO

- 1) ¿Qué factores intervienen en la patogenia de una infección viral?
- 2) ¿Qué es un efecto citopatológico y cuáles son?
- 3) ¿Por qué se produce lisis celular?
- 4) ¿Qué ventaja tienen los virus que pueden causar fusión celular?
- 5) ¿Qué puede ocurrir con las proteínas de una célula infectada?
- 6) ¿Cómo puede un virus alterar el ciclo de proliferación celular?
- 7) ¿Cuáles son los mecanismos de lesión de las células infectadas?
- 8) ¿Cuáles son nuestras principales fuentes de contagio de enfermedades virales?
- 9) ¿Por qué mecanismos nos podemos contagiar?
- 10) ¿Cuándo un órgano constituye una puerta de entrada para un virus?
- 11) ¿Cómo alcanza un virus sus órganos blanco?
- 12) ¿Cómo se puede transmitir una infección viral de la madre al hijo?
- 13) ¿Cuáles son las distintas formas evolutivas que puede tener la relación virus huésped y cómo se define cada una?

MECANISMOS DE DEFENSA

Aquellos mecanismos que están presentes desde el nacimiento se denominan inespecíficos o innatos y actúan en forma inespecífica contra cualquier agente agresor. Por el contrario, los mecanismos específicos o adquiridos van apareciendo en el transcurso de la vida a medida que el individuo se enfrenta a diversos agentes microbiológicos, contra los cuales va desarrollando una respuesta específica que lo protege de futuros contactos. Ambos sistemas se complementan en sus funciones defensivas en forma muy armónica. Sin embargo, a veces la respuesta normal defensiva resulta de efectos deletéreos para el huésped. Por otro lado, los microorganismos han ido desarrollando estrategias para evadir ciertos mecanismos defensivos del huésped.

MECANISMOS INESPECÍFICOS O INNATOS

La capacidad de un virus de infectar a un huésped está condicionada por la presencia de receptores en la célula huésped, y determinada genéticamente. Como son propios de cada especie, los virus que afectan a animales rara vez encuentran receptores para invadir células humanas, aunque hay excepciones (rabia, ciertas cepas de influenza A, hantavirus). Es posible que los receptores varíen con la edad, sexo, estados fisiológicos (embarazo), enfermedades concomitantes, estrés, y sean un factor importante en la variación de la susceptibilidad que existe en los individuos de una población ante los virus. Los receptores no están diseñados en la célula específicamente para los virus, sino que cumplen otras funciones, y resultan estructuralmente adecuados para la adsorción de ciertos virus. Así se ha demostrado que los virus HIV usan como receptor al CD4 de los linfocitos T, el virus Epstein Barr utiliza el C3H, etcétera.

La edad, sexo y estado nutricional deben considerarse como una suma de factores. Por ejemplo, la desnutrición se asocia frecuentemente a carencias nutritivas específicas, hacinamiento, malos hábitos higiénicos, bajo nivel socioeconómico, falta de control de salud, siendo difícil determinar qué papel juega la desnutrición en sí en la susceptibilidad ante un agente específico.

La integridad anatómica y funcional de las barreras mecánicas (piel, mucosas) es fundamental para evitar infecciones por diversos microorganismos (Figura 1). A nivel de mucosas respiratoria, digestiva, genital, conjuntival, etc., existe todo un sistema defensivo basado en la existencia de cilios, secreciones mucosas que contienen enzimas y otros elementos que impiden o dificultan la adsorción viral. En esta permanente lucha de las mucosas por eliminar los agentes agresores muchas veces se rompe el equilibrio por otras razones (tabaquismo, contaminación ambiental, alcoholismo, enfriamiento, infección masiva, etc), lo que facilita el progreso de la infección.

La inflamación, con todos los mecanismos que involucra (fiebre, fagocitosis por macrófagos y neutrófilos, liberación de mediadores, etc), representa un mecanismo defensivo muy eficiente. Sin embargo, la alteración fisiológica que conlleva puede ser la causa de las manifestaciones clínicas, en ocasiones exagerada y deletérea. Por eso, debe considerarse que las drogas de acción antiinflamatoria pueden ser beneficiosas o dañinas en la evolución de la infección, dependiendo del mecanismo de lesión en juego. Este ha de tenerse especialmente presente al prescribir corticoides, que son potentes antiinflamatorios.

La producción de interferones (alfa, beta, gama) es un mecanismo muy eficiente de defensa que actúa rápidamente y contribuye a la mejoría de la infección. Los interferones son proteínas producidas por leucocitos, fibroblastos y linfocitos T en respuesta a una infección viral u otros estímulos; tienen una triple acción como antiviral, inmunomodulador y citostático. Los interferones son específicos para la especie que los produce, debido a su interacción con el receptor de la membrana celular. Pero tienen un amplio espectro de acción que les permite actuar sobre la mayoría de los virus, por lo que parecen ser elementos ideales para el control de las infecciones virales. Sin embargo, la rápida degradación que sufren en el organismo, los efectos secundarios que inducen y las dificultades en su biosíntesis, han limitado su uso terapéutico a ciertas situaciones, como se explica en el capítulo de antivirales.

Naturaleza de los interferones. Hay 3 clases de interferón (IFN) humano: α , β y γ (Tabla 1). Los IFN- α y β son producidos con mayor frecuencia por leucocitos y fibroblastos respectivamente, en respuesta a la infección viral así como a una variedad de inductores. Estos se denominan interferones tipo I. El IFN- γ , conocido también como interferón inmune o interferón tipo II, es producido por células linfoides no sensibilizadas en respuesta a mitógenos y linfocitos T sensibilizados, estimulados por antígenos específicos. La separación de los interferones en estas 3 clases se basa principalmente en su antigenicidad; son inmunológicamente diferentes, y por ello, los antisueros contra una clase son incapaces de neutralizar a los interferones de las otras dos clases. Todos los interferones son derivados de precursores que tienen 166 aminoácidos (aa); poseen una secuencia señal en el extremo N-terminal de 20-23 aminoácidos de largo, siendo el tamaño final de estas proteínas de 143 aa para IFN- α , 145 aa para IFN- β y 146 aa para IFN- γ .

Producción de los interferones. Las células en condiciones normales no sintetizan interferón, lo que indica ausencia de transcripción de los genes que codifican para estas proteínas. Sin embargo, su formación puede inducirse por una variedad de factores, tales como una infección viral, moléculas de RNA de doble hebra, algunas bacterias y otros componentes que estimulan la respuesta inmune. El inductor más importante de la producción de interferón resulta ser la infección por virus; en general, los virus RNA son mejores inductores que los virus DNA.

Durante la infección viral de una célula se produce la liberación del genoma viral (DNA o RNA). La presencia o replicación del genoma viral se asocia con una desrepresión de los genes que codifican para los interferones. Consecuentemente,

se produce la síntesis de mRNA y posterior producción de proteínas, en este caso, interferón. La producción de interferón es independiente del tipo viral infectivo; comienza alrededor de 4 horas postinfección, y, en forma paralela a la síntesis de proteínas virales, alcanza un máximo, para declinar posteriormente. Los interferones producidos son secretados al medio extracelular, uniéndose a receptores específicos expresados tanto en la misma célula como en las células vecinas no infectadas. Su vida media efectiva es relativamente corta (alrededor de 4-6 horas). Los interferones son capaces de disminuir la carga viral en células ya infectadas; sin embargo, son más efectivos en inhibir la replicación viral en células vecinas o ubicadas a distancia. Después de la unión interferón-receptor celular, se induce la síntesis de diversas moléculas que actúan a nivel de la transcripción del mRNA viral, en la traducción de las proteínas virales y en el ensamblaje y/o liberación de partículas virales.

Mecanismo de acción. Una de las proteínas inducidas por el interferón es capaz de iniciar una serie de reacciones que llevan a la activación de una enzima presente en forma latente, la cual es capaz de degradar el mRNA viral. Este sistema de adeninas (2,5 Oligo-A), que actúa como activador de una ribonucleasa latente, implica la síntesis de una enzima, que a su vez sintetiza un activador de un pequeño oligonucleótido, latente en el citoplasma celular. Esta ribonucleasa degrada al mRNA viral, inhibiendo la traducción de las proteínas virales; aunque también es capaz de degradar mRNA celular, su efecto es mayor sobre los mRNA virales.

Otro mecanismo que permite explicar la acción antiviral del interferón involucra la inducción de la síntesis de otra proteína y su subsecuente activación. Corresponde a una proteína quinasa de 67 kd que normalmente está inactiva; sin embargo, frente a una infección viral y a la producción de interferón, esta quinasa se autofosforila y es capaz, a su vez, de fosforilar el factor de iniciación 2 (*elf-2*) que participa en la traducción del mRNA en el ribosoma. Esto produce la inhibición de la síntesis de proteínas virales.

Además de inducir la síntesis de enzimas que inhiben la multiplicación viral, el interferón afecta una variedad de funciones celulares como: el crecimiento celular, tanto de células normales como tumorales; la diferenciación celular; el aumento de la actividad de células NK; la inhibición de la migración de los leucocitos; el aumento de la citotoxicidad mediada por anticuerpos, etc. Hoy en día se considera a los IFN como citoquinas capaces de transmitir señales regulatorias entre células, y por lo tanto, capaces de ejercer funciones inmunomoduladoras.

Actualmente, una de las áreas de mayor interés es la relacionada con el estudio de la actividad antiproliferativa e inmunomoduladora del interferón en el tratamiento del cáncer humano. El IFN- α ha sido empleado como terapia para una variedad de tumores con mejores resultados que el IFN- γ .

MECANISMOS ESPECÍFICOS, INMUNES O ADQUIRIDOS

El huésped inmunocompetente desarrolla mecanismos específicos de inmunidad adquirida, a nivel humoral (anticuerpos) y celular, dirigidos contra distintos

constituyentes del agente infectante que se expresan durante la infección. Ambos componentes de la respuesta inmune están interrelacionados, se pueden producir a nivel local, asociado a mucosas, y a nivel sistémico, y son esenciales para controlar la infección e inducir resistencia duradera frente a las reinfecciones.

Los virus que destruyen las células para salir al medio extracelular son fundamentalmente controlados por la respuesta humoral, mientras que aquellos que lo hacen por yemación, sin lisis, están limitados básicamente por mecanismos de inmunidad mediados por células (Figuras 7 y 8). En este caso, los anticuerpos pueden participar en la neutralización viral si existe viremia, o en la lisis de células infectadas en conjunto con el complemento o con ciertas células citotóxicas asesinas (células *killer* o *natural killer*).

Esta respuesta inmune adquirida está definida por su especificidad y por su capacidad de memoria, de tal forma que en un contacto posterior con el mismo antígeno, la respuesta secundaria será más intensa, precoz y prolongada, por existir un conocimiento previo almacenado como memoria. Cada individuo nace con una cantidad de clones de linfocitos, los cuales tienen un receptor específico capaz de reconocer un determinado epítipo. Durante la respuesta primaria ocurre una expansión clonal de poblaciones de linfocitos específicos para un antígeno, de tal forma que, posteriormente, perduran linfocitos B y T capaces de responder al antígeno en el futuro. Estas células de memoria poseen receptores más afines al antígeno, debido a la selección ocurrida durante la respuesta primaria.

Inmunidad humoral. En la inmunidad humoral, los mecanismos efectores son los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig), glicoproteínas producidas por los linfocitos B y constituidas por 4 cadenas polipeptídicas, dos pesadas y dos livianas. Estos anticuerpos desempeñan diversas funciones: eliminar la infección viral primaria, limitar la viremia, limitar la enfermedad y prevenir las reinfecciones.

El organismo produce anticuerpos contra todos los constituyentes inmunogénicos del virión con los que se contacta. Aquellos que se dirigen contra los constituyentes externos del virión serán capaces de neutralizar la acción de éste y se denominan anticuerpos neutralizantes, porque determinan la pérdida de la infectividad de los viriones. Esta acción se ejercería de muchas formas: inhibiendo la adsorción del virión a los receptores celulares, evitando la penetración viral, inhibiendo la decapsulación, provocando la lisis inmune de las partículas mediante anticuerpos y complemento, y favoreciendo la fagocitosis mediante opsonización y agregación de las partículas virales.

En el primer contacto con un virus se producen los anticuerpos en la denominada respuesta primaria. Esta respuesta es bifásica, con una primera fase constituida por IgM (a los 5-8 días postinfección), y la segunda por IgG (15-20 días). La IgA aparece en el suero en menor cantidad y en forma posterior. La corta duración de la IgM, generalmente 2-3 meses, aunque puede variar según la infección viral, permite su utilización en el diagnóstico de una infección reciente. Por el contrario, la IgG dura meses, años y a veces, toda la vida.

En las respuestas secundarias (reinfecciones) puede haber una respuesta anamnésica de IgM de corta duración, pero lo que siempre está presente es una producción importante de IgG. Esta respuesta es más rápida e intensa que la primaria, cumpliendo un papel importante en el control temprano de la infección.

La magnitud de la respuesta inmune dependerá de factores tales como la naturaleza del virus, su puerta de entrada, su forma de diseminación, etc. Es así como en el caso de existir viremia, la estimulación antigénica será intensa y afectará a todo el tejido linfóide del organismo y la respuesta de anticuerpos será de gran magnitud. En las infecciones locales como las respiratorias, el virus queda restringido a la mucosa, existiendo una producción local de IgA secretoria en los nódulos linfoides de la submucosa; en estos casos, la respuesta sérica es de escasa magnitud. Se ha detectado IgA secretoria específica antiviral en secreciones respiratorias, oculares, intestinales, genitales y en la leche materna. Muchos virus inducen la producción de esta inmunoglobulina y es de especial importancia en la prevención de las reinfecciones por virus respiratorios. Su corta duración, 1-4 años, contribuye a la repetición de episodios de afecciones virales respiratorias que se presentan durante nuestra vida.

Inmunidad celular. La participación de la inmunidad celular requiere del procesamiento del material inmunogénico por las células monocíticas fijas (Kupffer en hígado, microglía en sistema nervioso, macrófagos alveolares, etc.) y circulantes del huésped, quienes lo procesan y “presentan” a los linfocitos. Los elementos efectoros son los linfocitos T que pueden agruparse en LTh CD4 (ayudadores), LTs CD8 (supresores) y LTc (citotóxicos). Existen otros linfocitos denominados asesinos naturales (NK) de funciones igualmente citotóxicas

Estos linfocitos T expresan en su superficie una proteína fijadora de antígeno en forma específica, el receptor de las células T (TcR). La fijación de un antígeno a este receptor inicia una cascada de reacciones de activación que inducen la proliferación y la diferenciación de las células T. El reconocimiento de estos antígenos se realiza sólo cuando están presentes en la superficie de las células presentadoras de antígenos (APC), asociados a los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I para LTs y c y de clase II para LTh. (Figuras 2 y 3)

Tras la activación de las células T, éstas intervienen estimulando o suprimiendo las respuestas inmunes de otras células o destruyendo la célula blanco, mediante procesos de contacto entre membranas celulares (citotoxicidad) o por liberación de mediadores. Las células T citotóxicas CD8 reconocen el antígeno en el contexto de los antígenos de clase I del MHC, que se encuentran en prácticamente todas las células del organismo. La destrucción celular se llevaría a cabo por la liberación de enzimas (Figuras 3 y 4).

Los LT CD4 o colaboradores regulan toda la respuesta inmune, incluyendo la regulación de las funciones de los LB y de los LT citotóxicos. El reconocimiento del

antígeno sólo se efectúa si está en asociación con los antígenos de clase II del MHC, presente sólo en algunas células presentadoras de antígenos del sistema inmune, como linfocitos B y macrófagos (Figura 6). Estos LTh se han clasificado según el tipo de respuesta inducida: Th1, si es predominantemente defensiva, por la producción de IL 2 e interferón gama; Th2, o inflamatoria, por producción de IL 4, IL5 e IL 13 que inducen síntesis de IgE, maduración, migración y degranulación de eosinófilos, fenómenos típicos de la respuesta alérgica.

En general, la inmunidad celular es importante en la resistencia a los patógenos que replican en el interior de las células, y dado el carácter de parásitos intracelulares que poseen los virus, es fácil comprender su importancia en el control de las infecciones virales (Figura 7).

Como se mencionaba en un comienzo, las respuestas inmunes humoral y celular están interrelacionadas (Figura 2). Es así como la activación de los LB requiere del contacto con los LT, aunque también existen antígenos capaces de hacer una activación "T independiente" de los LB. Las células B ingieren y procesan el antígeno unido a la inmunoglobulina y presentan el inmunógeno junto con la proteína del MHC. Esta combinación es reconocida por receptores específicos para el antígeno, presentes en los LT CD4 o ayudadores, determinando la unión de ambas células (Figura 5). Este contacto directo permite el intercambio de señales de activación y la producción de proteínas inmunorreguladoras denominadas citoquinas que se unen a receptores específicos de los LB (Tabla 2).

Los LT CD8 pueden inhibir la producción de anticuerpos actuando directamente sobre las células B, o a través de la supresión de una célula T que estimule la producción de anticuerpos.

EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE. La respuesta inmune específica permite tanto la recuperación de una infección como la prevención de futuros episodios y tiende a controlar y eliminar el agente infectante. Ante esto se han desarrollado diversos mecanismos de evasión a esta respuesta que explican la persistencia de la infección y la sobrevivencia del agente (Tabla 3).

A continuación se comentan algunos de los mecanismos mencionados en la Tabla:

- Los herpesvirus se propagan por vecindad y pasan de la célula infectada a la vecina sin alcanzar el compartimento extracelular, evadiendo así los mecanismos defensivos extracelulares.
- Algunos virus tienen la capacidad de experimentar variaciones estructurales que hacen ineficiente la inmunidad adquirida contra las cepas precedentes (influenza A). La gran variedad de serotipos existentes en la mayoría de los grupos de virus (3 poliovirus, más de 100 rinovirus, 46 adenovirus, 72 enterovirus, hepatitis A,B,C,D,E, etc.), significa que los virus se han diversificado evolutivamente a tal punto que no inducen una respuesta inmune común de grupo (heterotípica), sino que se requiere el montaje de una respuesta específica para cada virus (homotípica). La tecnología

actual permite estudiar más profundamente la estructura de los virus, y cada día surge la pregunta sobre cuántas variantes se han descrito de un virus y qué relación tiene con su patogenicidad, virulencia y con los otros aspectos de la virología.

- La localización de algunos virus en sitios ocultos al sistema inmunocompetente facilita su persistencia (virus sarampión en sistema nervioso, virus herpes simplex en ganglios sensitivos).

- La formación de complejos inmunes de los virus invasores con moléculas de anticuerpos dificulta su reconocimiento como partículas extrañas y su consiguiente eliminación.

- La depresión inmunológica transitoria o permanente que inducen algunos virus dificulta la respuesta inmune. Se ha demostrado que muchos virus alteran la respuesta inmune (HIV, citomegalovirus, influenza, sarampión), ya sea al destruir las células inmunocompetentes o al producir un desequilibrio en su acción, como se ilustra en la Tabla 4.

AUTOINMUNIDAD. La respuesta inmune generalmente es beneficiosa y permite la eliminación del agente infeccioso. Se ha mencionado que la respuesta inflamatoria puede ser responsable de los signos y síntomas de la infección. Una condición básica del sistema inmune es su capacidad de discriminar lo propio de lo ajeno, para evitar desarrollar una respuesta contra antígenos propios. Sin embargo, este reconocimiento puede fallar y el sistema inmunocompetente, en conjunto con la respuesta inflamatoria inespecífica, desarrolla una reacción contra el propio huésped que es deletérea. Existen mecanismos patogénicos de autoinmunidad y a los virus se les ha responsabilizado de muchos de ellos; algunos se mencionan en la Tabla 5.

Los virus envueltos forman su manto con proteínas virales que se intercalan entre las proteínas de la membrana de la célula, de modo que el virus lleva en su manto algunos antígenos del huésped. Pueden darse dos situaciones: primero, que el virus se replique en un lugar de difícil acceso para el sistema inmunocompetente, como el sistema nervioso, y al salir los virus hacia la circulación general arrastren componentes propios (como mielina) que son considerados ajenos por el sistema inmune. Segundo, que las proteínas normales de la célula sufran pequeñas alteraciones al integrarse al manto viral. En ambos casos el sistema inmune va a desarrollar una respuesta contra antígenos celulares propios que daña a la misma célula. Otros ejemplos incluyen la desregulación del control de la respuesta inmune por alteración de linfocitos T ayudadores y supresores, con respuesta policlonal contra antígenos normales (HIV, virus Epstein- Barr).

CUESTIONARIO

1. Mencione mecanismos inespecíficos de defensa que sean importantes en la protección frente a una infección viral.
2. ¿Qué alteraciones de los mecanismos inespecíficos de defensa pueden ser

- responsables de infecciones respiratorias repetitivas?
3. Mencione características de la respuesta inmune adquirida.
 4. ¿En qué se diferencia una respuesta inmune primaria de una secundaria?
 5. ¿En qué se diferencia la respuesta inmune frente a una infección local de una infección sistémica?
 6. ¿Qué papel cumple el MHC?
 7. Frente a los virus extracelulares, ¿qué tipo de inmunidad específica es más relevante y por qué?
 8. Frente a los virus intracelulares, ¿qué tipo de inmunidad específica es más relevante y por qué?
 9. Explique 3 mecanismos de evasión de la respuesta inmune, dando ejemplos.
 10. Mencione algunos virus capaces de determinar inmunosupresión en el ser humano.
 11. Describa 2 mecanismos de autoinmunidad, enfatizando las repercusiones que pueden tener para el huésped.

FIGURA 1.

MECANISMOS DE DEFENSA INESPECÍFICOS

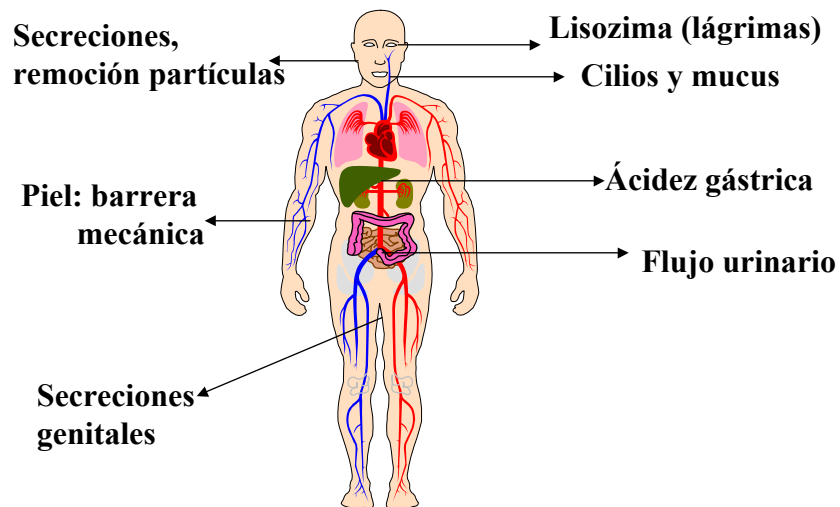


TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS INTERFERONES HUMANOS

<u>PARÁMETRO</u>	<u>IFN-α</u>	<u>IFN-β</u>	<u>IFN-γ</u>
CÉLULAS PRODUCTORAS	Leucocitos periféricos	Fibroblastos	Linfocitos

AGENTES INDUCTORES	Infección viral, RNA doble hebra, bacteria	Infección viral, RNA doble hebra	Mitógenos, Antígenos
LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA	9	9	12
TAMAÑO (aa)	143	145	146
ESTABILIDAD A pH 2	sí	sí	no
ACTIVIDAD EN SDS	sí	sí	no

TABLA 2. ALGUNAS CITOQUINAS DEL SISTEMA INMUNE

CITOQUINA	PRODUCIDA POR	CÉLULAS BLANCO	EFFECTOS EN LA RESPUESTA INMUNE
IL-2	Células T	Células T y NK	Proliferación de células activadas por antígenos y de otras células inmaduras (ej: NK)
IL-3 (CSF)	Células T (CD4+)	Células progenitoras (Médula ósea)	Crecimiento/ diferenciación de todas las células
IL-4	Células T (CD4+)	Células B Células T	Estimulación del cambio de cadena pesada de la Ig a isotipo IgE Desarrollo y diferenciación de las células T
IL-5	Células T	Células B Eosinófilos	Crecimiento y diferenciación de eosinófilos y activación de eosinófilos maduros
IL-7	Células estromales (médula ósea)	Linfocitos	Factor de crecimiento (genera células pre- B y pre- T)
IL-10	Macrófagos Células T	Macrófagos Células T	Inhibición de la función de los macrófagos Control de la respuesta inmune
IL-15	Macrófagos Otros	Células NK y T	Proliferación
IFN-α Tipo 1	Macrófagos	Todas las células	Interfiere con la replicación viral
IFN-γ Tipo 1	Fibroblastos	Células NK	Activación

TNF	Macrófagos Células T	Leucocitos y Células endoteliales	Activación/proceso inflamatorio
TGF-β	Células T Macrófagos Otros	Células T Otras Macrófagos	Inhibe la activación y proliferación de linfocitos Inhibe la activación de macrófagos

IL = interleuquina

IFN = interferón

TGF = factor transformador de

CSF = factor estimulador de colonia

TNF = factor de necrosis tumoral

TABLA 3. MECANISMOS DE EVASIÓN A LA RESPUESTA INMUNE DE ALGUNOS VIRUS

<u>MECANISMOS</u>	<u>EJEMPLOS</u>
Respuesta humoral o celular pobre	Virus respiratorio sincial (RSV)
Propagación a célula contigua	Virus herpes simplex, virus rabia
Variedad antigénica	Virus influenza, rinovirus, HIV
Complejo virus-anticuerpo	Virus hepatitis B
Modulación presentación antígeno celular	Virus sarampión, RSV
Camuflaje de receptores Fc	Herpesvirus
Inmunosupresión	HIV, virus sarampión Virus influenza A
Latencia	Virus herpes

TABLA 4. ALGUNOS VIRUS RESPONSABLES DE INMUNOSUPRESIÓN

<u>VIRUS</u>	<u>HUÉSPED</u>	<u>FUNCIÓN AFECTADA</u>			<u>OBSERVACIONES</u>
		<u>LT</u>	<u>LB</u>	<u>NK²</u>	<u>Macrófago</u>
Sarampión	humano	+	+	+	

Distemper	perro	+	+		+	profunda supresión
HTLV-1 ¹	humano	+	±			especialmente LT h ³
HIV	humano	+		+		gran compromiso LT h ³
Citomegalovirus	humano	+	+	+	+	¿agente secundario?
Epstein Barr	humano	+	+			activación policlonal LB
Herpes simplex	humano	+				sólo <i>in vitro</i>
Influenza	pollo	+				destruye linfocitos

-
1. HTLV-1 : Virus humano linfotrópico de células T
 2. NK: Células *natural killer*
 3. LT h: Linfocito T helper

TABLA 5. POSIBLES MECANISMOS DE AUTOINMUNIDAD MEDIADOS POR VIRUS

-
1. Cambios en el sistema inmune del huésped:
 - Activación directa policlonal de linfocitos B
 - Alteración directa o indirecta de células inmunoregulatoras, como linfocitos T supresores, *natural killer*, otros.
 - Alteración de liberación de linfoquinas (interferón, factor de necrosis tumoral).

 2. Efecto dañino de anticuerpos antivirales:
 - Semejanza molecular.
 - Anticuerpos antiidiotipos.
 - Formación de complejos inmunes.

 3. Cambios en los antígenos del huésped inducidos por virus:
 - Exposición de antígenos ocultos.
 - Modificación de antígenos de superficie.
 - Inducción de nuevos antígenos.
 - Incorporación de antígenos celulares por virus .
-

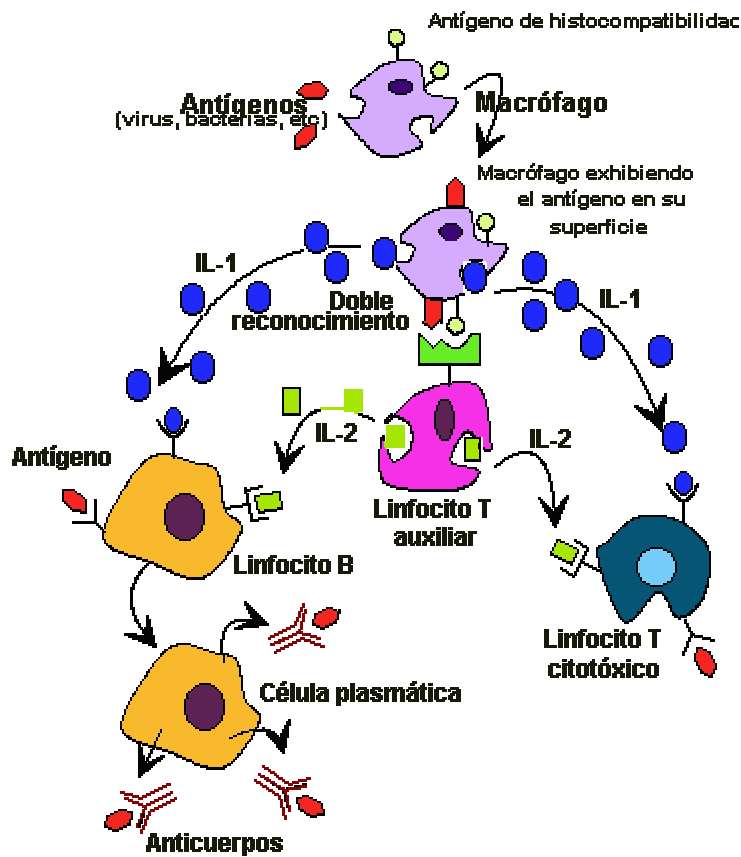


FIGURA 2. RESPUESTA INMUNE CELULAR

FIGURA 3.

ACTIVACIÓN DE LT CD8

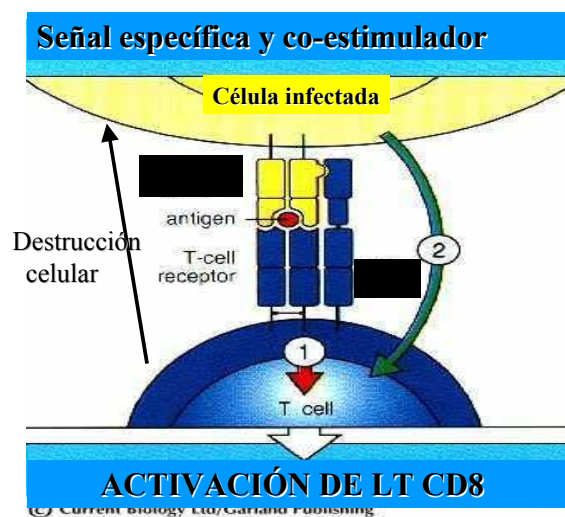


FIGURA 4. DESTRUCCIÓN DE LA CÉLULA INFECTADA POR EL LT CD8

En la célula infectada se producen proteínas virales que se rompen en péptidos, los cuales son transportados al retículo endoplásmico, donde son rodeados por moléculas de MHC- I. Estos complejos viajan a la superficie celular, pudiendo ser detectados por un LT citotóxico que expresa una proteína CD8 (1). Posteriormente, el LT secreta compuestos que destruyen a la célula infectada.

ACCIÓN DEL LT

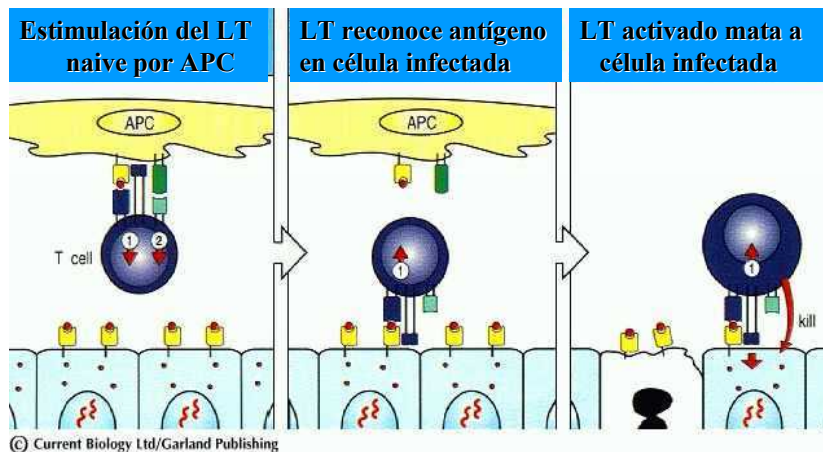
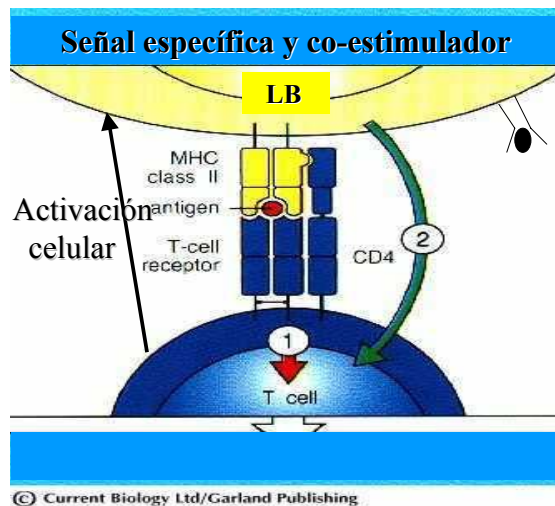


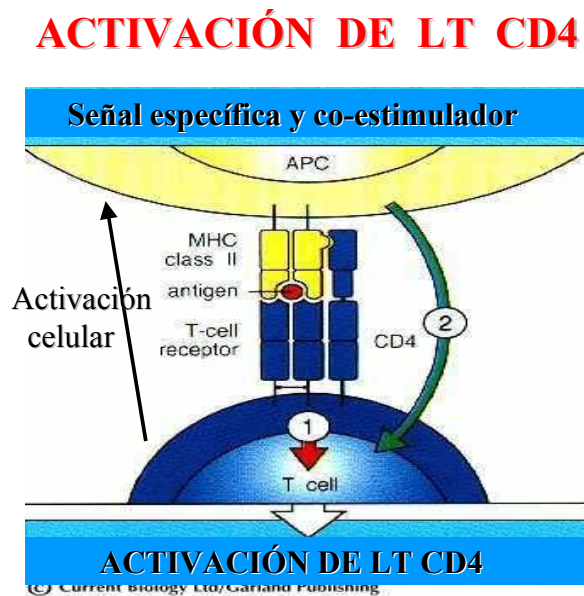
FIGURA 5. ACTIVACIÓN DEL LB

ACTIVACIÓN DE LB



El anticuerpo presente en la superficie del LB actúa como su receptor, al cual se puede unir un antígeno, el que será depositado en una vesícula en el interior de la célula, rompiéndose en péptidos. Una molécula de MHC -II migra a la vesícula y se une al péptido, transportándose a la superficie celular. Un LT CD4 helper se une y activará la proliferación de los LB y la producción de anticuerpos.

FIGURA 6.



RESPUESTA INMUNE ANTI VIRUS INTRACELULAR

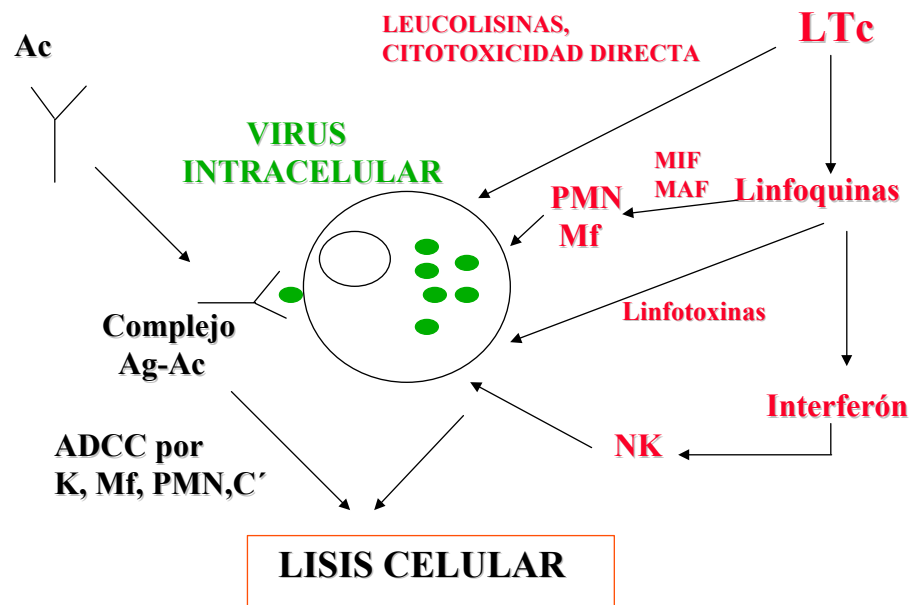
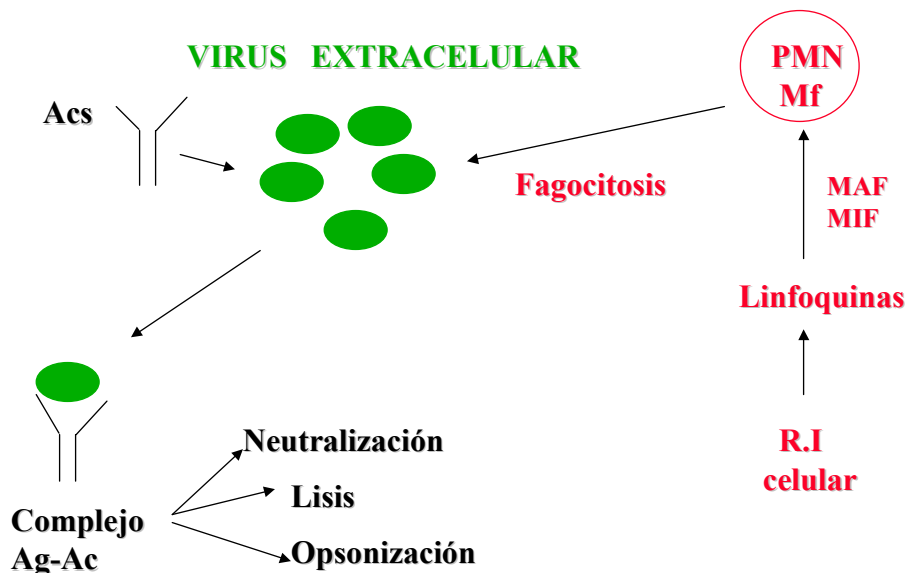


FIGURA 7.

FIGURA 8

**RESPUESTA INMUNE ANTI
VIRUS EXTRACELULAR**



BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Abbas A, Lichtman A, Pober J. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: WB Saunders, 1991.
- 2.- Ahmed R, Stevens J. Viral persistence. En: Fields B. Virology, 2ª ed. New York: Raven Press, 1991; 241-265.
3. Collier L, Oxford J. How viruses cause disease. En: Collier L, Oxford J. Human Virology. Oxford: Oxford University Press, 1993; 39- 55.
4. Fields B. Biología de los virus. En: Schaechter M, Medoff G, Eisenstein B, Guerra H. Microbiología. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1994: 415-436.
5. Hendley JO, Gwaltney J. Mechanisms of transmission of rhinovirus infections. Epidemiol. Rev. 1988; 10: 242- 58.

6. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Patogenia y control de las enfermedades virales. En: Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Microbiología Médica, 14^a ed. México: El Manual Moderno, 1992; 421- 439.
7. Roitt I, Brostoff H, Male D. Immunology, 3^a ed. Londres: Mosby-Year Book Europe Limited, 1993.
8. Schattner A, Rager-Zisman R. Virus-induced autoimmunity. Rev Infect Dis 1990; 12 (2): 204-22.
9. Tramont E. Mecanismos de defensa generales o inespecíficos del huésped. En: Mandell G, Douglas R, Bennet J. Enfermedades infecciosas. Principios y prácticas, 3^a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1991; 35-42.
10. Tyler K, Fields B. Pathogenesis of viral infections. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM *et al.* Virology, 3^a ed. Philadelphia: Lippincott- Raven Publishers, 1996; 173- 218.

Antivirales

Con el descubrimiento de la penicilina y su posterior uso en el tratamiento de enfermedades bacterianas, la práctica médica empezó a contar con terapias útiles para hacer frente a las infecciones. En los últimos 50 años se ha desarrollado un gran número de fármacos con actividad terapéutica contra bacterias, hongos y parásitos. El desarrollo de sustancias antivirales ha sido más lento y en la actualidad se dispone de un número creciente, pero todavía limitado de antivirales efectivos en clínica. La razón de esto, paradójicamente, está relacionado con la simplicidad de los virus. Debido a que las bacterias son organismos más complejos que los virus, presentan diferencias funcionales y metabólicas con las células eucarióticas, lo que permite actuar sobre vías metabólicas que les son propias. Por el contrario, los virus son parásitos intracelulares estrictos y pueden replicar sólo cuando infectan células, apropiándose de su maquinaria metabólica para producir nuevas partículas virales. Debido a que su ciclo replicativo está íntimamente relacionado con el de la célula que infecta, es difícil afectar la replicación viral sin alterar las funciones celulares. Por ello es necesario encontrar blancos vulnerables particulares de la replicación viral que permitan un ataque selectivo. Por otra parte, con frecuencia no se dispone de modelos animales adecuados para probar la eficacia de nuevos antivirales debido al tropismo viral. Así mismo, los resultados que se obtienen *in vitro*, no necesariamente se reproducen *in vivo*.

En resumen, las dificultades básicas en la obtención de antivirales de utilidad clínica son:

- Carácter de parásito intracelular estricto
- Uso de la maquinaria metabólica celular en su ciclo replicativo
- Dificultad en la evaluación de nuevas drogas

Los avances en el conocimiento del ciclo replicativo de diferentes virus ha permitido definir etapas específicas del ciclo de multiplicación viral, posibilitando el desarrollo de inhibidores selectivos de estas etapas. Los ensayos en el laboratorio, y posteriormente las pruebas clínicas, han confirmado la utilidad de algunas antivirales de uso médico. Estos nuevos compuestos han permitido el tratamiento de enfermedades grave, como la encefalitis herpética o el herpes neonatal, en las cuales el uso de aciclovir ha disminuido notablemente el porcentaje de mortalidad o secuelas.

Los progresos en la quimioterapia antiviral han generado han generado la necesidad de contar con técnicas de diagnóstico rápidas y específicas que permitan instaurar un tratamiento antiviral precoz y adecuado.

Las características que debe cumplir un antiviral para ser utilizada en clínica son:

- Alta especificidad
- Baja toxicidad
- Buena solubilidad
- Buena biodisponibilidad oral
- Sin acción mutagénica, teratogénica y carcinogénica
- De dosificación y costo convenientes

En forma general, el control de las infecciones virales puede realizarse por:

a) Sustancias inactivantes que actúan directamente sobre la partícula viral, en forma previa a su ingreso al huésped susceptible. Aquí se incluyen los antisépticos y desinfectantes que destruyen la capacidad infectiva de la partícula viral.

b) Compuestos antivirales que interfieren con el ciclo replicativo, evitando la formación de progenie viral. Estas drogas afectan procesos bioquímicos esenciales para la replicación y constituyen las drogas antivirales propiamente tales.

c) Inmunomoduladores: compuestos que modifican la respuesta inmune del huésped, entre los cuales se incluyen los interferones.

COMPUESTOS MÁS UTILIZADOS COMO DROGAS ANTIVIRALES:

A comienzos de la década de los años 50s se obtuvo el primer agente antiviral, el que derivó de un antibiótico; la sulfonamida. Desde entonces, se dispone de varios compuestos para uso terapéutico que actúan en distintos blancos del ciclo replicativo del virus. (Tabla 5.1). Estos compuestos pueden ser anticuerpos antivirales que impiden la

adsorción viral o bien moléculas solubles que funcionan como el receptor celular. (Cd4 soluble) neutralizando al virus antes de infectar células. También se han sintetizado derivados de péptidos virales que impiden la adsorción o la penetración del virus a la célula, interactuando o compitiendo con proteínas virales que participan con receptores o co-receptores celulares. Actualmente se dispone de péptidos inhibidores de la fusión de membranas que impiden los cambios conformacionales de las proteínas virales necesarios para este proceso y la entrada viral (Ej.:T-20).

En la actualidad, los antivirales más utilizados en clínica son aquellos capaces de bloquear enzimas virales en distintas etapas del ciclo replicativo. Las enzimas virales susceptibles de ser inhibidas son: las polimerasas DNA y RNA dependientes; la transcriptasa reversa del HIV; las proteasas de HIV y la neuroaminidasa de virus influenza. Se están estudiando inhibidores de integrasa de retrovirus, los que impedirían la integración del DNA viral al genoma del huésped.

Los inhibidores de las enzimas virales pueden o no ser análogos de nucleósidos o nucleótidos. Algunos análogos de nucleótidos además, por su estructura química, impiden la síntesis de la nueva hebra viral al ser incorporados a esta cadena (aciclovir). Los inhibidores enzimáticos no análogos, como los que inhiben a la transcriptasa reversa y a las proteasas del HIV se utilizan desde mediados de la década de los 90s.

Con menos frecuencia se han utilizado compuestos químicos que impiden la modificación de péptidos o proteínas virales involucrados en el denudamiento viral (amantadina para virus influenza). El uso de otras moléculas que bloquean la síntesis de RNA, DNA o proteínas, como los RNA anticomplementario (antisense) se encuentra en estudio.

Tabla 5-1
COMPUESTOS ANTIVIRALES COMERCIALMENTE DISPONIBLES

<i>Tipo de Compuesto</i>	<i>Compuesto</i>	<i>Droga</i>	<i>Actividad antiviral</i>	<i>Virus blanco</i>
Anticuerpos	Ac.monoclonal humanizado	Palivizumab	Neutraliza la adsorción viral	RSV
Receptores solubles	CD4 soluble	CD4 soluble	Receptor soluble competitivo	HIV
	CD4-Ig2	PRO542	Receptor soluble competitivo	HIV
Péptidos modificados	Péptido derivado gP41	T-20	Inhibidor Quimioquina (Fusina)	HIV
Inhibidores enzimáticos Análogos de Nucléosido	Análogo Guanosina	Aciclovir	Inhibidor enzimático Terminador de cadena	HSV, VVZ
	Análogo Guanosina	Ganciclovir	Inhibidor enzimático	CMV
	Análogo Timidina	Iododeoxiuridina	Inhibidor enzimático Terminador de cadena	HSV
	Análogo Timidina	Azidotimidina	Inhibidor enzimático Terminador de cadena	HIV
	Análogo Timidina	Lamivudina	Inhibidor enzimático Terminador de cadena	HIV, HCV
	Análogo Inosina Análogo Citosina Análogo Timidina Análogo Guanosina Análogo Adenina	Dideoxiinosina Dideoxicitidina Stavudina Ribavirina Vidarabine	Inhibidor enzimático Inhibidor enzimático Inhibidor enzimático Inhibidor enzimático Inhibidor enzimático	HIV HIV HIV RSV HSV, VVZ
Inhibidores enzimáticos No Análogos	Sal Trisódica	Foscarnet	Inhibidor pirofosfato	CMV, HBV, HSV, HIV
	Benzodiazepinico	Nevirapina	Inhibidor enzimático	HIV
	Derivado de TIBO*	Efavirenz	Inhibidor enzimático	HIV
	Análogo ácido siálico (gangliósido)	Oseltamivir Zanamivir	Inhibidor enzimático	Influenza
Compuestos químicos	Isoxazoles	WIN 71711 (Pleconaril y Disoxaril)	Estabilizador de péptido viral	Picornavirus
		WIN V1	Estabilizador de péptido viral	Rhinovirus
	Amina primaria tricíclica	Amantadina, Rimantadina	Estabilizador de péptido viral	Influenza
RNA Antisense	RNA	No disponible	Bloqueo de la transcripción y traducción	HIV

* TIBO: tetrahydroimidazobenzodiazepinas.

ETAPAS DEL CICLO DE REPLICACIÓN VIRAL QUE PUEDEN SER AFECTADAS POR DROGAS ANTIVIRALES

Un agente antiviral efectivo interrumpe la replicación viral en un sitio específico y esencial del ciclo replicativo, sin afectar el metabolismo normal de la célula huésped. Para identificar estos sitios es necesario conocer la estructura y los mecanismos replicativos del virus.

Los blancos de acción más adecuados son aquellas etapas de replicación propias del virus (Figura 5-1).

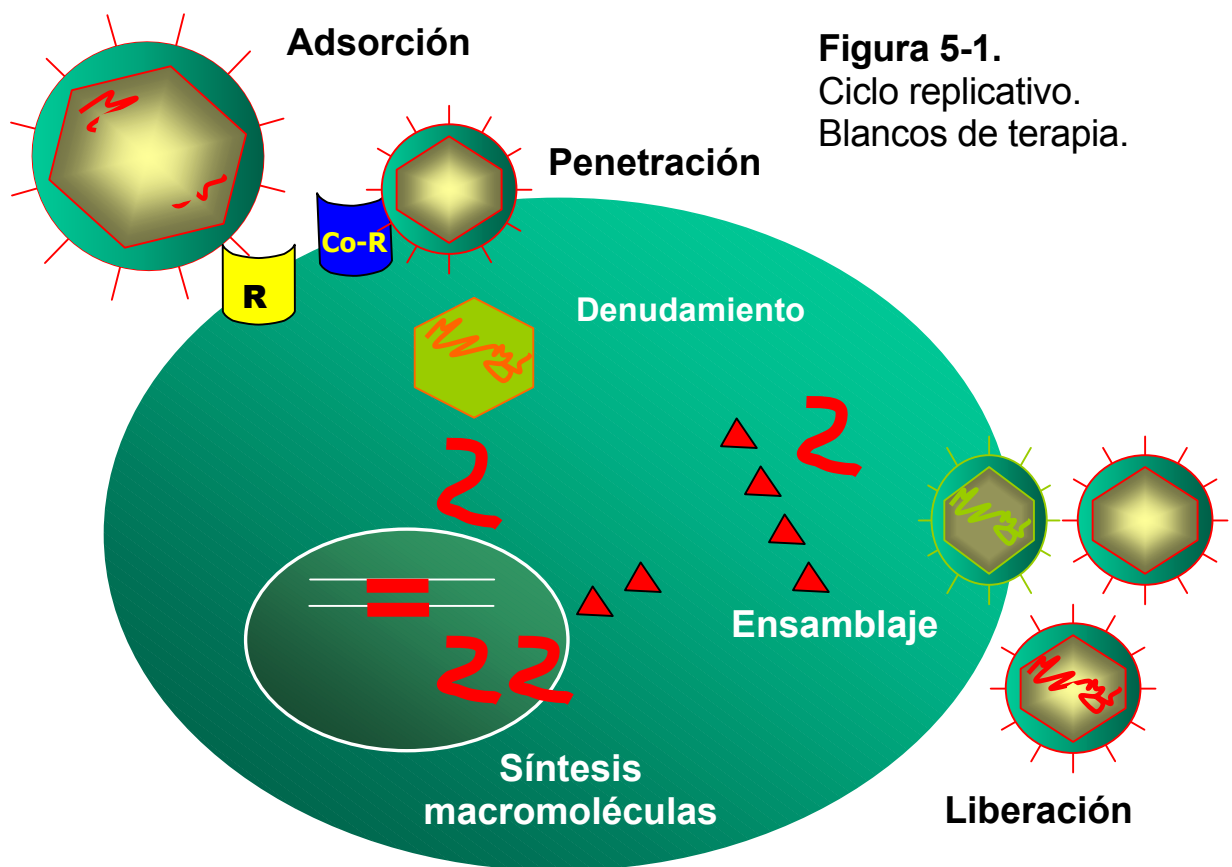


Figura 5-1.
Ciclo replicativo.
Blancos de terapia.

Adsorción y penetración. Todos los virus ingresan a la célula por estos mecanismos. Estos procesos implican la interacción de componentes virales con receptores específicos a nivel de la membrana celular, siendo susceptibles a la acción de agentes como los anticuerpos antivirales específicos. Se dispone de anticuerpos monoclonales humanizados capaces de neutralizar la infección del virus respiratorio

sincial Palivizumab (Synagis®). Este anticuerpo es un híbrido, con una fracción Fc humana y una fracción Fab , que reconoce antígenos virales, producida en animales (Figura 5-2). Otros compuestos capaces de impedir la entrada viral son las moléculas receptoras solubles (CD4 soluble), los bloqueadores de receptores (en desarrollo para HIV) y los inhibidores de la fusión de los co-receptores (T-20 o enfuvirtiva en HIV) (Figura 5-3).

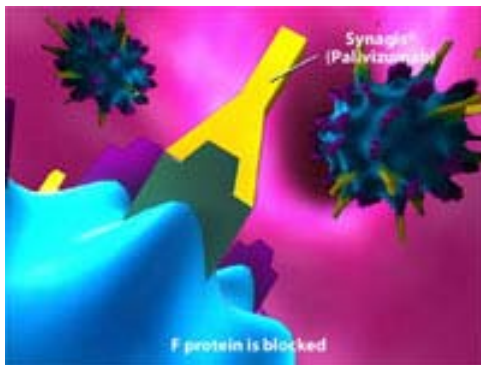


Figura 5-2. Palivizumab (Synagis®). Anticuerpo monoclonal humanizado anti-VRS

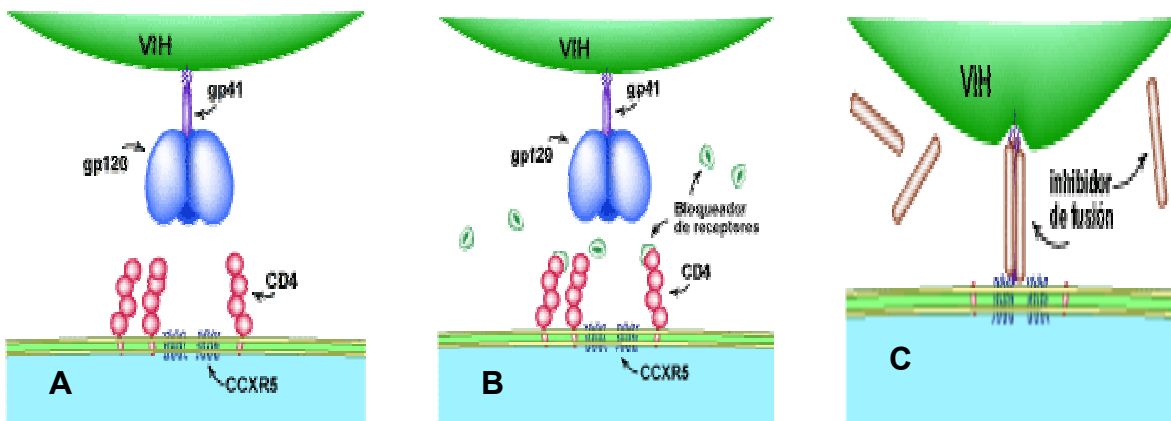


Figura 5-2. (A) Adsorción y fusión de HIV. La adsorción se produce por la interacción de CD4 con gp120 y la fusión por la interacción entre los receptores de quimioquinas (CCR5) y el complejo gp120/gp41. (B) Bloqueadores de CD4. (C) Inhibidores de fusión que interactúan con receptores de quimioquinas , impidiendo la interacción con péptidos virales (T-20).

Denudamiento. Puesto que generalmente algunas enzimas celulares participan junto a las enzimas virales, resulta difícil interferir en esta etapa en forma específica sin alterar el metabolismo celular. En infecciones por virus influenza se han utilizado, amantadina y rimantadina (aminas primarias), que impiden el denudamiento viral. Los isoxazoles se han utilizado en infecciones por enterovirus (Picornavirus).

Estos compuestos impiden el denudamiento de la partícula viral, al estabilizar la estructura de los péptidos virales. (Figura 5-4).

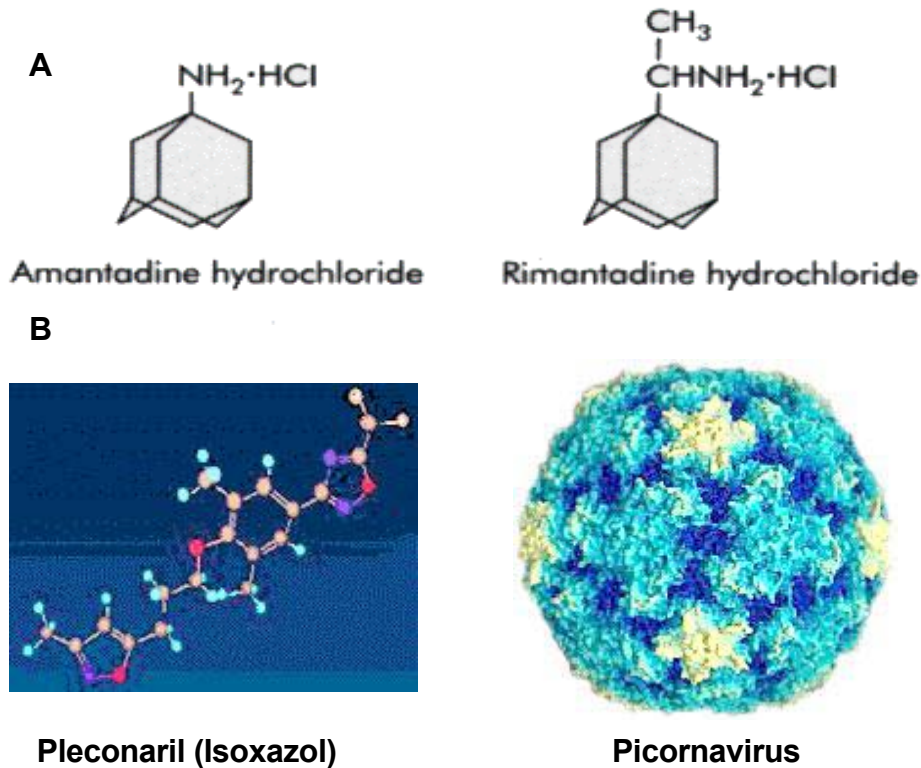


Figura 5-4. (A) Estructura de aminas primarias policíclicas. (B) Estructura de los isoxazoles y Picornavirus

Síntesis de macromoléculas virales. En esta parte del ciclo es importante distinguir :

a.- Síntesis de RNA mensajero. El proceso de síntesis de macromoléculas se inicia con la formación de RNA mensajero (mRNA). Siendo la transcripción un proceso universal, es difícil actuar sobre esta etapa sin interferir en la transcripción de la célula huésped. Se podrían diseñar drogas que inhiban la capacidad funcional del ácido nucleico viral que ingresa, o bien actuar sobre las enzimas involucradas, o sobre el producto.

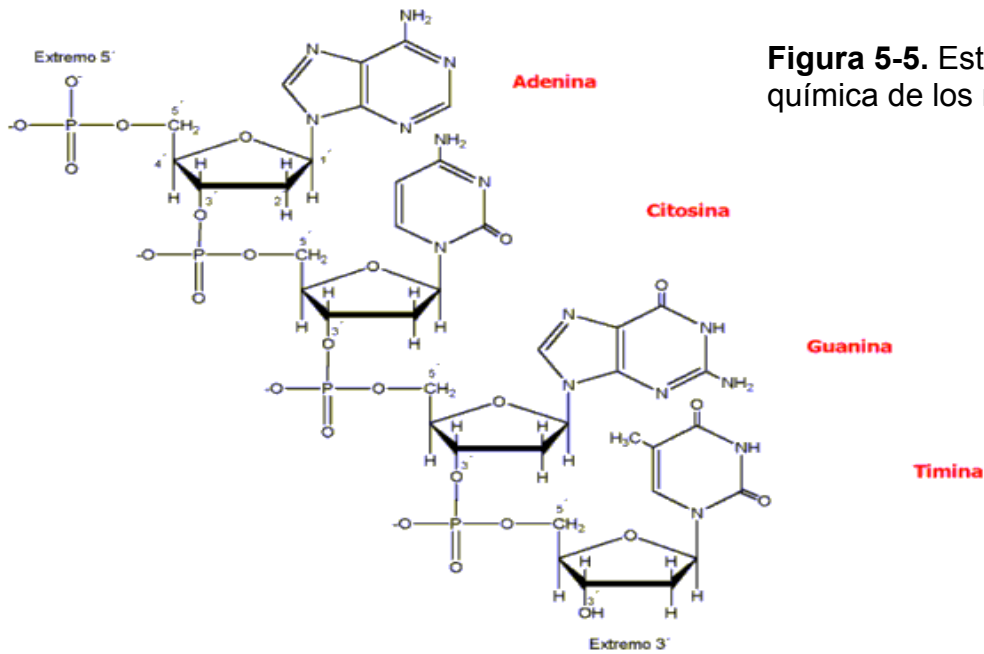


Figura 5-5. Estructura química de los nucleósidos

b.- Replicación del genoma viral. Este proceso implica replicación de virus RNA y DNA :

- Replicación de virus RNA.

Debido a que la célula normalmente sintetiza ribonucleótidos y RNA en forma continua, interferir con la síntesis de RNA altera la función celular. Por lo tanto, los blancos apropiados debe ser el RNA viral, la actividad de la RNA polimerasa y, o el complejo replicativo. Los compuestos que actúan a este nivel son la ribavirina (análogo de guanosina) y moléculas de RNA anticomplementario (“antisense”).

- Replicación de virus DNA.

Los blancos más vulnerables son la fuente de desoxirribonucleótidos y las enzimas virales, sobre los que actúan los análogos de nucleósidos. Estas moléculas se incorporan al genoma viral que está replicando y pueden: a) actuar como terminador de cadena , inhibiendo la elongación de la hebra de DNA, b) inhibir irreversiblemente a la polimerasa que participa en el proceso replicativo y c) actuar en ambos niveles. En este grupo se encuentran los antivirales más eficaces en clínica: vidarabina (ARA-A), aciclovir (ACV), ganciclovir (GCV), zidovudina (AZT), etcétera (Figuras 5-6).

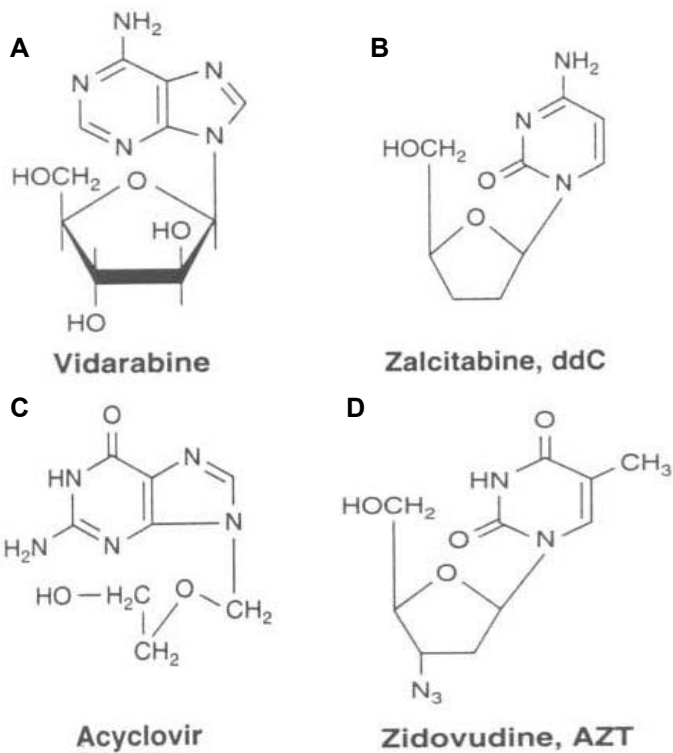


Figura 5-6. Estructura química de análogos de nucleósidos. Derivados de adenina (**A**), citosina (**B**), guanósina (**C**) y timidina (**D**)

Existen también compuestos no análogos de nucleósidos, capaces de inhibir la actividad de las polimerasas virales, pero no actúan como terminadores de cadena. El foscarnet es el más utilizado en clínica y actúa sobre la DNA polimerasa de los herpesvirus, y del virus hepatitis B y la transcriptasa reversa del HIV. La delavirdina, nevirapina y efavirenz (Sustiva) (Figura 5-7) son potentes inhibidores no análogos de la transcriptasa reversa del HIV.

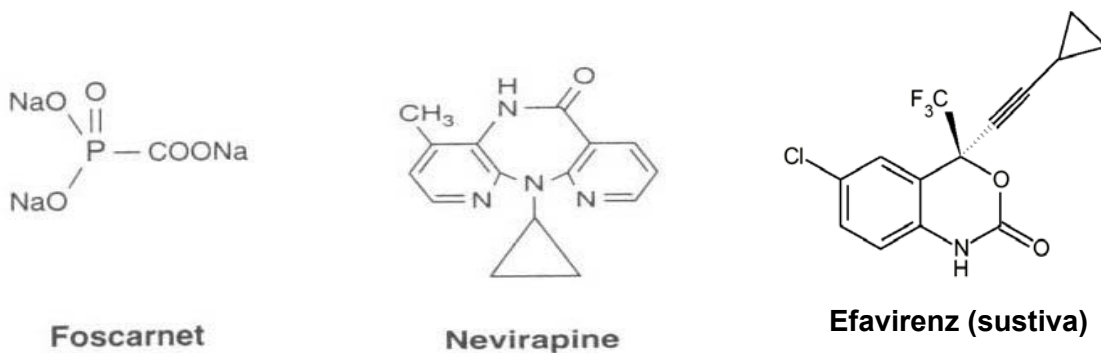


Figura 5-7. Estructura química de inhibidores de polimerasas no análogos.

Síntesis de proteínas virales. El interferón interfiere con la replicación de virus RNA y DNA, permitiendo la traducción de mensajeros celulares, pero no de mensajeros virales. En la actualidad, esta sustancia natural también se sintetiza *in vitro* para uso clínico.

Procesamiento de proteínas virales precursoras. Algunos virus requieren que proteasas virales procesen poliproteínas en dos o más proteínas, para su ensamblaje. Una alternativa de tratamiento anti HIV es la inhibición competitiva de estas proteasas, por péptidos miméticos que al interactuar con estas enzimas, impiden su acción sobre el polipéptido viral. Entre ellos se encuentran saquinavir, ritonavir, indinavir y nelfinavir. Recientemente se han desarrollado nuevos inhibidores de proteasa de segunda generación (amprenavir). Esta nueva droga es de menor peso molecular y su carácter no peptídico la hace menos vulnerable a la digestión, mejorando su biodisponibilidad oral (89%) y reduciendo los efectos tóxicos. Amprenavir es 5.000 veces más selectiva por la proteasa aspártica del HIV que por las proteasas aspárticas celulares (Figura 5-8).

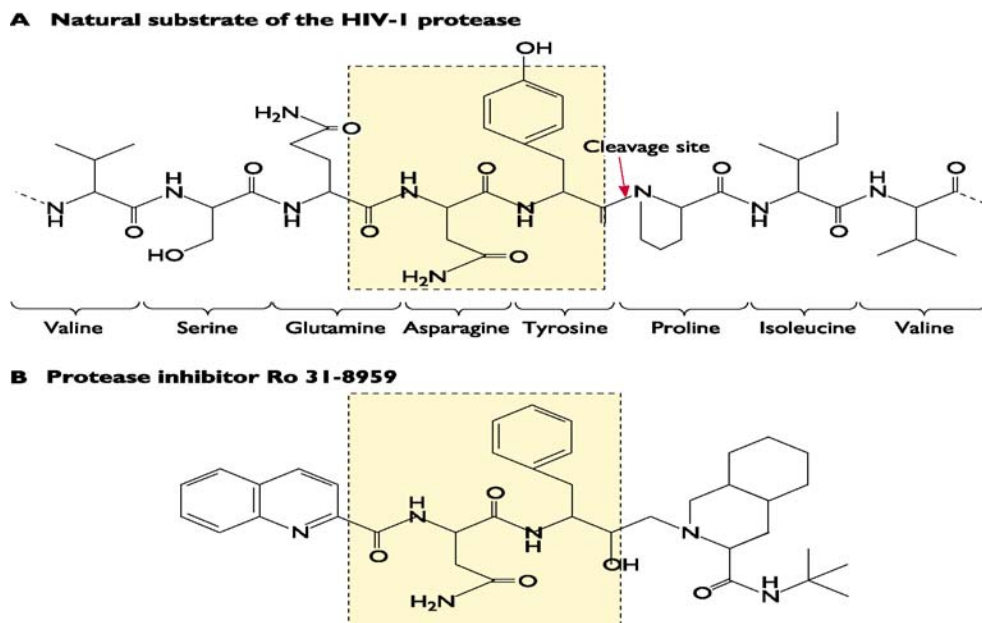


Figura 5-8. Estructura química de substratos de proteasas virales (A) e inhibidores de proteasas (B).

Ensamblaje. La droga isatín-B-tiosemicarbazona resultó ser efectiva para el tratamiento del virus de la viruela. Su mecanismo de acción más probable sería la interferencia con el ensamblaje de las proteínas estructurales sintetizadas.

Liberación. Recientemente se dispone de drogas antivirales que intervienen en la liberación de la partícula viral desde la célula infectada. Estos son compuestos análogos al ácido siálico, que inhiben a la neuroaminidasa, impidiendo la liberación de nuevas partículas de virus influenza desde células infectadas, evitando de esta manera, la propagación del virus a células no infectadas (zanamivir y oseltamivir).

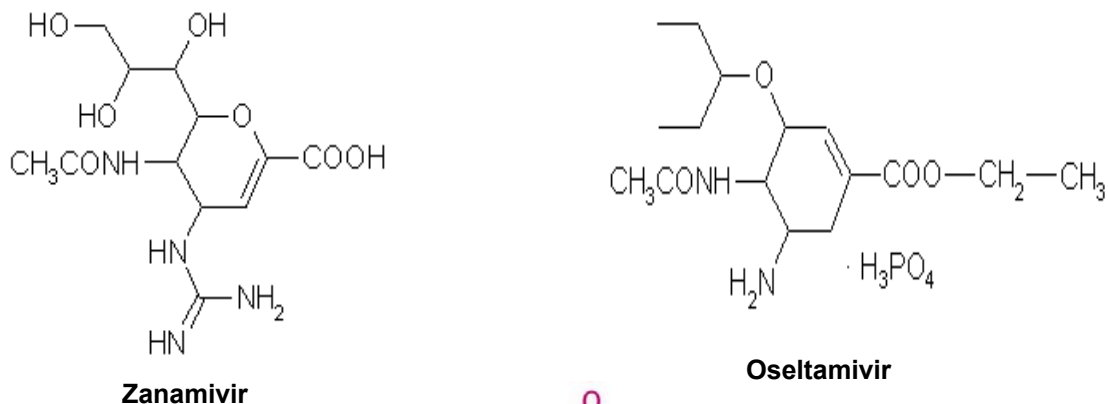
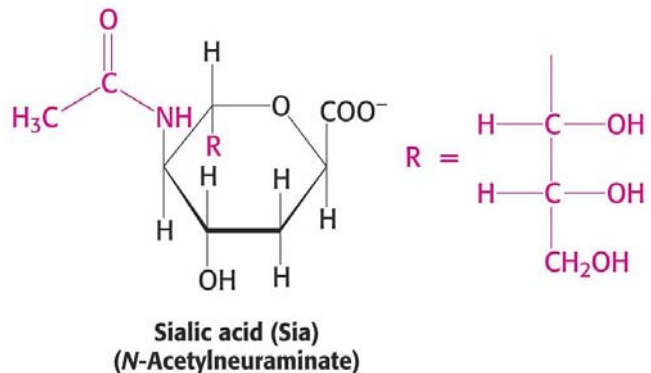


Figura 5-9. Estructura química de los análogos de ácido siálico, inhibidores de neuroaminidasa



AGENTES ANTIVIRALES ACTUALMENTE MÁS UTILIZADOS

Los agentes antivirales actualmente más utilizados en clínica se presentan en la Tabla 5-2, de acuerdo a la etapa del ciclo replicativo que interfieren.

TABLA 5-2. AGENTES ANTIVIRALES NATURALES Y ARTIFICIALES DE USO ACTUAL

<i>Etapa Interferida</i>	<i>Compuesto</i>	<i>Droga</i>	<i>Actividad Antiviral</i>	
Adsorción	Anticuerpo	Palivizumab	VRS	
	Péptidos	En desarrollo	HIV	
Fusión	Péptidos	T-20	HIV	
Denudamiento	Aminas tricíclicas	Amantadina	Influenza A	
		Rimantadina		
Síntesis Molecular - DNA y RNA	Isoxasoles	Pleconaril	Picornavirus	
	Análogos de Nucléosidos	Iododeoxiuridina		HSV
		Trifluorotimidina		HSV, VZV
		Vidarabina		HSV, VZV
		Aciclovir		HSV, VZV
		Ganciclovir		CMV
		Cidofovir		CMV, HPV
		Adefovir		HIV, HBV, CMV, EBV
		Zidovudina	AZT	HIV
		Lamivudina	3TC	HIV, HBV
		Didanosina	DDI	HIV
	Zalcitabina	DDC	HIV	
Stavudina	D4T	HIV		
Emtricitabina	FTC	HIV		
Abacavir	ABC	HIV		
Tenofovir	TDF	HIV		
		Ribavirina	VRS	
	No análogos	Foscarnet	CMV, HBV, HCV, HIV, HSV	
		Nevirapina	HIV	
		Efavirenz	HIV	
		Delavirdina	HIV	
- Proteínas	Interferón	Interferón natural Interferón α pegilado	Virus inespecífico, VHB, VHC	
	Inhibidores de proteasas	Ritonavir	HIV	
Saquinavir		HIV		
Indinavir		HIV		
Nelfinavir		HIV		
Lopenavir/Ritonavir		HIV		
Amprenavir		HIV		
Atazanavir		HIV		
Liberación viral	Inhibidores de Neuroaminidasa	Zanamivir	Influenza	
		Oseltamivir	Influenza	

A continuación se presentan algunos de ellos considerando el blanco del ciclo replicativo que intervienen o por su alto interés en clínica.

INHIBIDORES DE VIRUS INFLUENZA.

AMANTADINA Y RIMANTADINA. Son aminas policíclicas simétricas (Figura 5-4) con actividad primaria contra el virus influenza A. Estos compuestos inhiben el denudamiento del virus, probablemente al bloquear la proteína de la matriz viral M2. Esta proteína forma canales iónicos para el paso de protones, permitiendo los cambios de pH que se producen durante el denudamiento viral. Tienen las mismas indicaciones que se señalan para los antivirales que se presentan a continuación.

ZANAMIVIR Y OSELTAMIVIR. Son moléculas análogas al ácido siálico (N-acetil-glucosamina), que inhiben a la neuroaminidasa de los virus influenza. Actúan en el proceso de liberación de nuevas partículas virales evitando la propagación de nuevos viriones a células vecinas. Estos compuestos se unen a la neuroaminidasa, impidiendo que la enzima rompa la interacción entre el ácido siálico de la membrana celular y la hemaglutinina de las partículas virales, durante la salida del virión. La unión de estos inhibidores a la neuroaminidasa es más estable que el substrato natural, por poseer más sitios de unión (Figuras 5-9 y 5-10).

Zanamivir (Relenza®), se administra vía nasal en aerosol y oseltamivir (Tamiflu®) vía oral. Ambos de reciente incorporación, logran su mayor eficacia si la administración se inicia dentro de las primeras 48 horas de enfermedad. Se recomienda en personas con alto riesgo de sufrir complicaciones por la infección, incluyendo personas de la tercera edad y enfermos con patología cardiorrespiratoria e inmunocomprometidos. La vacuna contra el virus influenza es recomendada también como profilaxis y se justifica el uso de estos antivirales en conjunto con la vacuna, o bien solos, cuando la vacuna está contraindicada por alergia a las proteínas del huevo, cuando hay una inmunodeficiencia severa y también cuando la cepa viral usada en la vacuna es diferente a la epidémica.

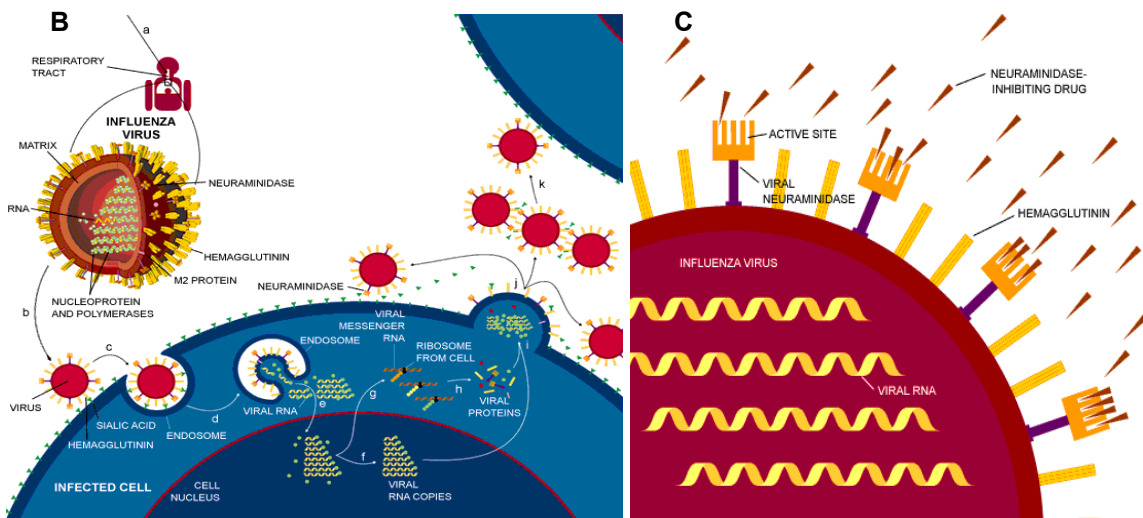
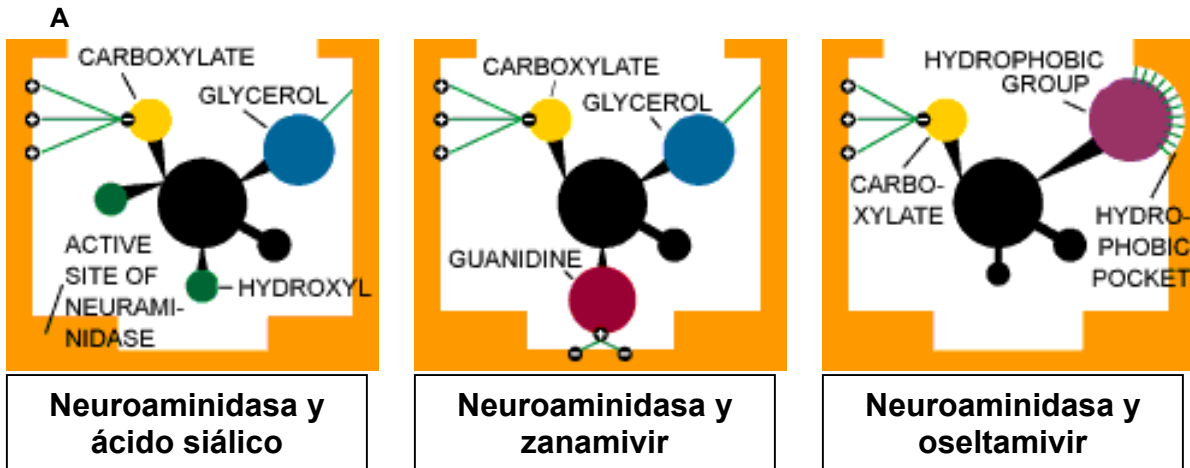


Figura 5-10. (A) Sitios de Unión de Neuroaminidasa a ácido siálico, zanamivir y oseltamivir: **(B)** Replicación de virus influenza. **(C)** Inhibidores de neuroaminidasa ocupando el sitio de unión al sustrato natural.

INHIBIDORES DE HERPESVIRUS

VIDARABINA (Adenina arabinosido, Ara-A). Este análogo de la adenina (Figura 5-11) es el primer antiviral efectivo contra las infecciones por virus de la familia *Herpesviridae*, con mayor actividad frente a herpes simplex (HSV) y varicella-zoster (VZV). Actúa en distintas etapas del ciclo replicativo viral. Es fosforilado a una forma activa, vidarabina trifosfato (vidarabina-TP), por quinasas celulares de manera más eficiente que por la TK viral y, por lo tanto, es activo contra cepas de HSV con mutaciones en el gen de la timidina quinasa que son resistentes al aciclovir.

Esta droga se administra vía parenteral y presenta diversos efectos adversos: náuseas, vómitos, diarrea, alteraciones neurológicas como ataxia y, en altas dosis (20-30 mg/kg/día), puede inducir anemia, leucopenia y trombocitopenia.

El desarrollo del aciclovir, de mayor selectividad, mucho menor toxicidad y de fácil administración para el tratamiento de infecciones por virus HSV y VZV, ha relegado el uso de vidarabina. El aislamiento de cepas mutantes de HSV, resistentes al aciclovir, la mantiene como droga alternativa.

ACICLOVIR. El aciclovir (ACV) es un análogo de la guanósina y posee una cadena acíclica (Figura 5-11). Su espectro antiviral está limitado a algunos herpesvirus. Este es el primer antiviral desarrollado que se activa mediante una enzima propia de estos virus, lo que le confiere alta especificidad, siendo metabolizado selectivamente en las células infectadas por HSV. Para inhibir la síntesis de DNA viral, debe ser fosforilado primero a aciclovir monofosfato (ACV-MP) por la timidina quinasa viral. Posteriormente, el ACV-MP es fosforilado a aciclovir difosfato (ACV-DP), y luego a aciclovir trifosfato (ACV-TP) por quinasas celulares. Debido a este mecanismo de acción, la cantidad de ACV-TP formado en las células infectadas es mucho mayor que en las no infectadas. Esta droga es 200 veces más afín por la timidina quinasa viral de HSV que por las quinasas celulares, y es fosforilada más rápido por la enzima viral que por las de la célula, lo que implica que la cantidad de ACV-TP producido en las células infectadas es 40-100 veces mayor que en las células normales.

El ACV-TP inhibe la síntesis de DNA viral mediante dos mecanismos (Figura 5-12):

- 1) Se incorpora al DNA viral y actúa como un terminador de la cadena por carecer del grupo OH en la posición 3'.
- 2) Se une irreversiblemente a la DNA polimerasa viral formando un complejo inactivo, y en consecuencia, inhibe la síntesis de DNA viral.

En resumen, la acción selectiva de esta droga contra los virus HSV y VZV es consecuencia de:

- La fosforilación específica inducida por la timidina quinasa viral.
- La inhibición selectiva de la DNA polimerasa viral.
- La incorporación de la molécula en la cadena de DNA viral y bloqueo de la elongación de ésta
- La inactivación irreversible de la DNA polimerasa viral.

Se dispone de aciclovir (Zovirax®) para ser administrado en forma tópica, oral o parenteral. La biodisponibilidad oral no es mayor al 20% de la droga efectiva medida en plasma, por lo que en infecciones severas por HSV y en individuos inmunocomprometidos se utiliza la vía parenteral para alcanzar rápidamente las concentraciones plasmáticas deseadas. Es excretado por el riñón, por lo tanto, se debe controlar la dosis, que puede llegar a ser tóxica, en pacientes con insuficiencia renal. Su uso está recomendado en situaciones especiales, debido a que el empleo indiscriminado puede favorecer la selección de mutantes resistentes a la droga.

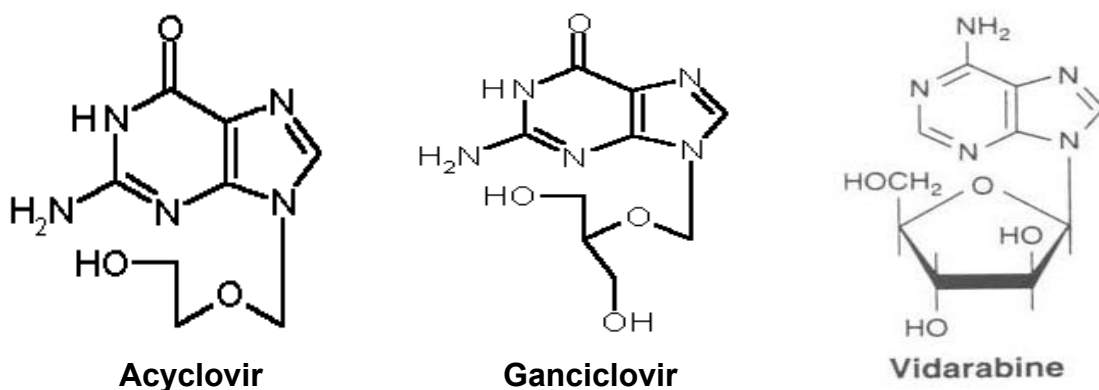


Figura 5-11. Estructura química de los inhibidores de virus de la familia *Herpesviridae* más utilizados

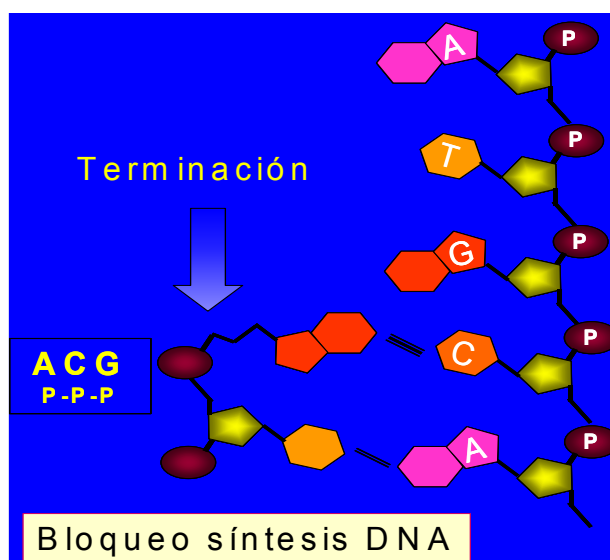
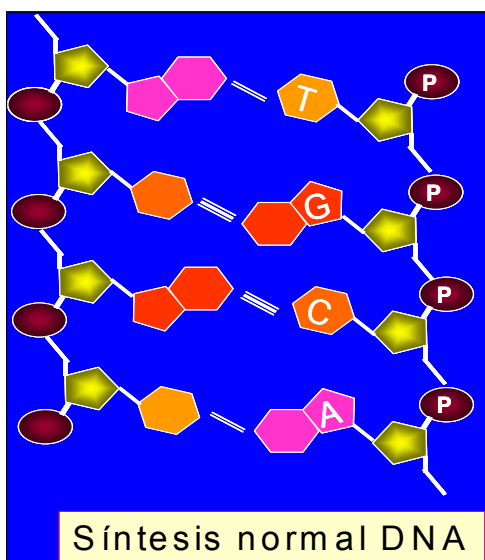
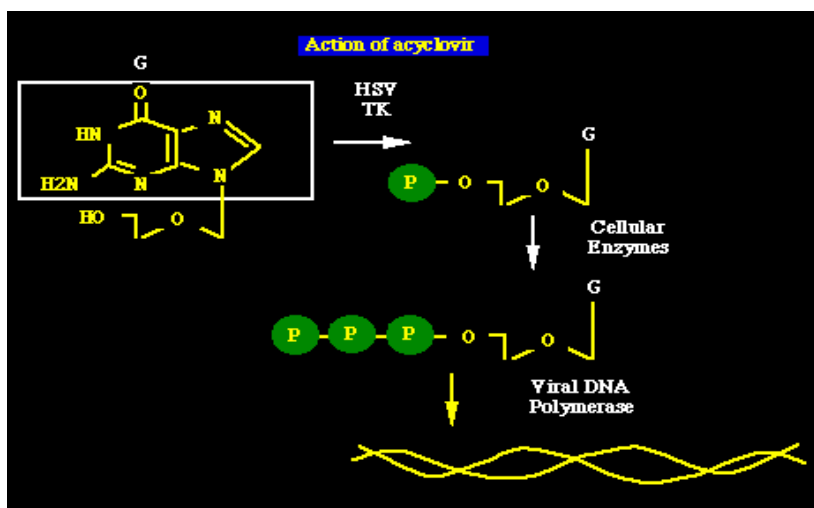


Figura 5-12. Mecanismo de acción del aciclovir (ACV). Síntesis normal de DNA y bloqueo de la síntesis por incorporación de la molécula de ACV-TP en la cadena de DNA viral.

GANCICLOVIR. Este análogo acíclico de la guanósina (Figura 5-11), se utiliza en infecciones por citomegalovirus (CMV). De estructura y mecanismo de acción similar al aciclovir, no es un estricto terminador de cadena, porque posee un grupo hidroximetilo, que permite la incorporación de otro nucleótido. Al igual que aciclovir la primera fosforilación de ganciclovir ocurre por una fosfotransferasa viral codificada por el gen viral UL97 del CMV. Las siguientes fosforilaciones se producen por actividad de quinasas celulares. El ganciclovir monofosfato (GCV-MP) es mejor sustrato que aciclovir para la

fosfotransferasa viral, lo que le permite tener una vida media intracelular de al menos 12 horas comparado con 1 a 2 horas del aciclovir, Esta diferencia explica porque el ganciclovir es más eficaz que el aciclovir en las infecciones por CMV. Los niveles de GCV-TP son 10 veces mayores que los que alcanza ACV-TP en células infectadas con CMV. Por otra parte, los niveles de GCV-TP son 10 veces mayores en células infectadas por CMV en comparación con células no infectadas. El GCV-TP, al igual que el ACV-TP, es un inhibidor competitivo de dGTP por la DNA polimerasa y es un sustrato más efectivo para la enzima viral que para la celular.

Las infecciones por CMV están ampliamente difundidas en la población, pero cursan en su mayoría en forma asintomática. Sin embargo, hay grupos de riesgo en los cuales está indicado el tratamiento con ganciclovir, como los individuos inmunosuprimidos, en quienes este virus es causa frecuente de retinitis, esofagitis, colitis y neumonía, de curso muy grave. De menor selectividad que el aciclovir resulta una droga más tóxica y su uso prolongado provoca efectos adversos en tejidos con alta tasa de recambio celular como son las células sanguíneas. También resulta nefrotóxico, por lo que en individuos con insuficiencia renal se deben ajustar las dosis.

FOSCARNET (Fosfonoformato). Es un compuesto no nucleósido (Figura 5-7), una sal trisódica de ácido fosfonofórmico, análogo no competitivo de pirofosfato que inhibe selectivamente las DNA polimerasas de los herpesvirus y virus de la hepatitis B, como también sobre la enzima transcriptasa reversa de HIV-1. El foscarnet (Foscavir®) se usa en forma tópica en el tratamiento de herpes oral y genital recurrente, por vía sistémica en enfermedades por CMV en pacientes infectados por HIV y como alternativa en pacientes inmunocomprometidos con infecciones por HSV resistentes al aciclovir.

PRODROGAS Y ANÁLOGOS DE ACICLOVIR Y GANCICLOVIR. En los últimos años se han desarrollado compuestos análogos de aciclovir y ganciclovir que han mejorado la biodisponibilidad oral de los análogos originales y prolongado su vida media. Esto ha facilitado la dosificación y mejor adherencia en terapias prolongadas. Este hecho es fundamental en pacientes inmunosuprimidos HIV positivos, que presentan con alta frecuencia infecciones severas por virus de la familia *Herpesviridae*, requiriendo muchas veces profilaxis secundaria para estos agentes de

por vida. Actualmente se dispone de dos análogos de aciclovir: penciclovir y famciclovir y una prodroga, valaciclovir. Para citomegalovirus se dispone de una prodroga de ganciclovir, valganciclovir (Figura 5-13).

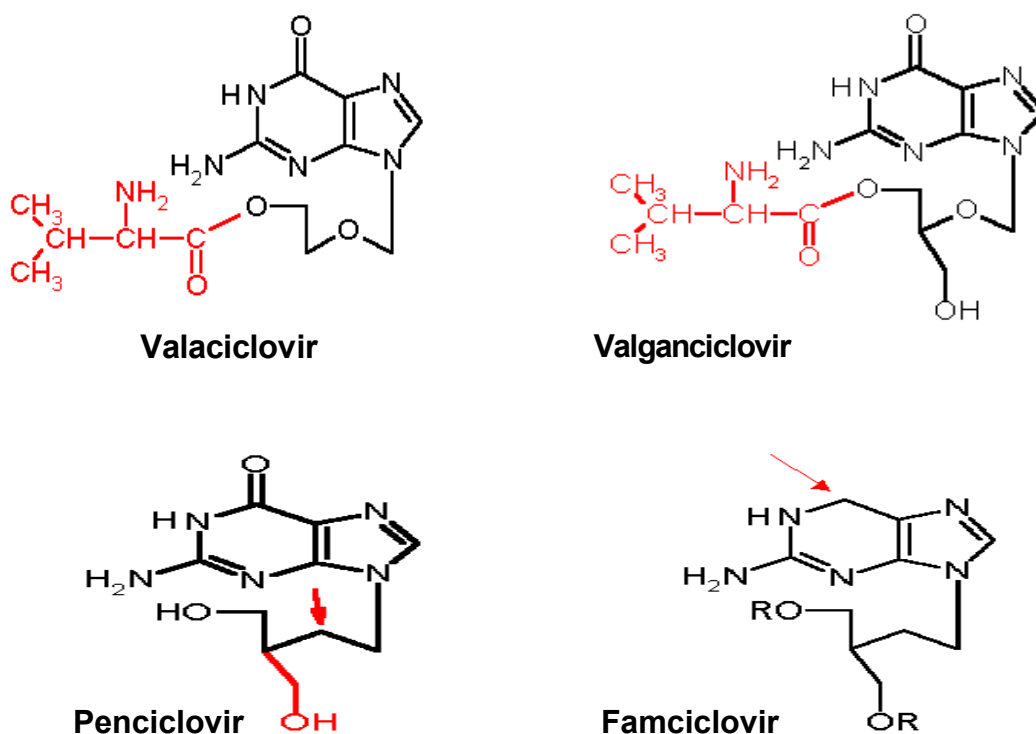


Figura 5-13. Estructura químicas de prodrogas de aciclovir y ganciclovir.

VALACICLOVIR. Es una molécula de aciclovir a la que se le agrega una molécula de valina (L-valil ester de aciclovir) (Figura 5-13), haciéndola más estable a la digestión gástrica. Disponible sólo en forma oral, después de la ingestión es rápidamente convertida en aciclovir por hidrolasas gastrointestinales y hepáticas. De esta manera la biodisponibilidad oral es tres a cinco veces mayor que la del aciclovir, alcanzando niveles plasmáticos del 60% de la droga ingerida. Valaciclovir (Valtrex®) es efectivo en infecciones causadas por virus herpes simplex, varicela zoster y en profilaxis de citomegalovirus en pacientes inmunocomprometidos.

PENCICLOVIR. Estructuralmente difiere del ganciclovir sólo en la sustitución de un puente metilado por oxígeno en la ribosa acíclica. Su mecanismo de acción es similar al de aciclovir, pero no es un estricto terminador de cadena. Tiene actividad sobre virus herpes simplex y varicela-zoster; sin embargo, tiene pobre biodisponibilidad oral. Si bien las concentraciones intracelulares son mayores que las del aciclovir, la interacción de PCV-TP con la DNA polimerasa viral es 100 veces más débil que la de aciclovir, por lo que no se utiliza ampliamente.

FAMCICLOVIR. Es una prodroga de penciclovir (diacetil-6-deoxi análogo de penciclovir). Tiene una buena absorción oral y es rápidamente metabolizado a penciclovir por deacetilación en el tracto gastrointestinal, sangre e hígado, después de lo cual es oxidado por el hígado en la posición 6 del anillo de purina. La vida media intracelular del famciclovir-TP, como droga activa es muy larga y es efectiva contra los virus herpes simplex y varicela-zoster.

VALGANCICLOVIR. Esta prodroga de ganciclovir (L-valil ester de ganciclovir) presenta una mayor biodisponibilidad oral (60% vs 6%), alcanzando concentraciones plasmáticas a niveles similares a los de la terapia endovenosa. Esto permite tratar por vía oral infecciones por CMV en pacientes inmunosuprimidos que requieren ganciclovir por largos períodos. Valganciclovir es hidrolizado rápidamente después de su ingesta por hidrolasas gastrointestinales igual que valaciclovir.

ANTIRETROVIRALES.

La epidemia y las consecuencias de la infección por HIV ha motivado el rápido y persistente desarrollo de numerosos antiretrovirales que actúan en distintos blancos de su ciclo replicativo. El enfoque actual de una terapia exitosa es la de utilizar al menos tres antiretrovirales que actúen en distintos sitios del ciclo replicativo, con el objeto de disminuir al máximo, o, incluso a cero la carga viral plasmática del individuo infectado. Los antiretrovirales actualmente disponibles se resumen en la Tabla 5.2. A continuación se comentan las características de algunos de ellos.

INHIBIDORES DE FUSION PARA HIV.

ENFUVIRTIVA (T-20).

Los inhibidores de fusión, también llamados inhibidores de fusina o quimioquinas como T-20 (Fuzeón®), son de reciente disponibilidad en la poliquimioterapia que requiere la infección por HIV. Estos péptidos análogos a las glicoproteínas virales (gP41) (Figura 5-2). interactúan competitivamente con los co-receptores de quimioquinas (CCXR5 y otros), impidiendo los cambios conformacionales necesarios de la gP41 viral, para que se produzca la fusión y entrada viral. Asociado a otros antiretrovirales, se ha observado una reducción en cerca de 2 log el nivel de carga viral en el plasma de individuos en quienes se ha indicado. El uso en niños está limitado porque sólo se dispone de una formulación inyectable.

INHIBIDORES DE TRANSCRIPTASA REVERSA, ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS.

ZIDOVUDINA.

La zidovudina, también llamada azidotimidina o AZT (Retrovir®), es un análogo sintético de la timidina (Figura 5-6), que requiere ser fosforilado por quinasas celulares. Esta, la primera droga antiretroviral eficaz, es capaz de inhibir la replicación de diversos retrovirus animales y humanos, incluyendo HTLV-I, HIV-1 y HIV-2. Para esto, en forma selectiva e incluso en bajos niveles, el AZT-TP interactúa con la transcriptasa reversa viral, impidiendo la síntesis del DNA del virus a partir del RNA viral. Al igual que el aciclovir, funciona como terminador de la cadena por carecer de un grupo -OH en el extremo 3' (posee un grupo azida en vez de un grupo hidroxilo).

El AZT puede administrarse por vía oral y parenteral, penetra la barrera hematoencefálica y placentaria alcanzando una concentración adecuada en el líquido cefalorraquídeo, placenta y feto. Esta cualidad hace que el AZT sea la droga de elección en los protocolos de prevención de la transmisión vertical por HIV. Los efectos tóxicos más frecuentes son anemia macrocítica, granulocitopenia, náuseas, mialgias, fiebre, insomnio, dolor de cabeza y otros efectos colaterales.

DIDEOXINOSINA (ddI) Y DIDEOXICITIDINA (ddC). Ambas drogas son análogos de los nucleósidos (Figura 5-14) y actúan como inhibidores de la replicación de HIV-1 *in vitro*. Tanto el ddI (Videx®) como el ddC (Zalcitabina®) se utilizan alternativamente o en asociación con otros

antiretrovirales en el tratamiento de individuos infectados por HIV-1. Estas drogas presentan un efecto sinérgico con AZT y otros inhibidores de transcriptasa reversa como stavudina (d4T), lo que ha estimulado el uso combinado de estas drogas en los pacientes (ddl/AZT, ddl/d4T o ddC/AZT).

En los últimos años se han licenciado otros análogos de nucleósidos inhibidores de transcriptasa reversa como lamivudina (3TC, Epivir®) (Figura 5-14), y stavudina (d4T, Zerit®), ambos análogos de timidina. Lamivudina también muestra actividad antiviral contra virus hepatitis B. Otros más recientes son abacavir (Ziagen®) y tenofovir (TDF). Abacavir es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y concentrarse en el líquido cefalorraquídeo. También hoy se dispone de combinaciones de estos compuestos como el Combivir® (AZT/3TC).

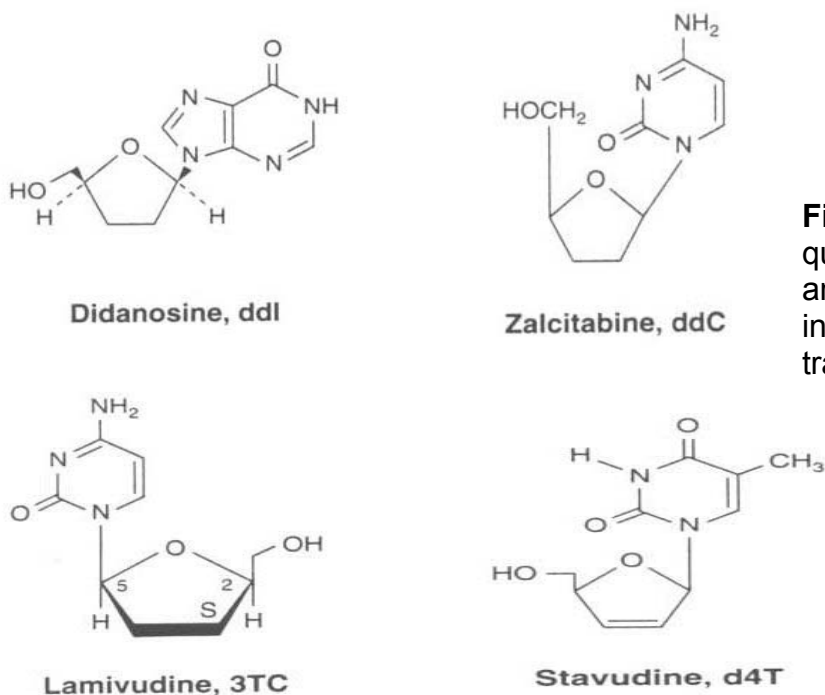


Figura 5-14. Estructura química de algunos análogos de nucleósidos, inhibidores de transcriptasa reversa

INHIBIDORES DE TRANSCRIPTASA REVERSA, NO ANÁLOGOS.

NEVIRAPINA. Nevirapina (Viramune®) es una benzodiazepina, potente inhibidor de la transcriptasa reversa del HIV, incapaz de inhibir la DNA polimerasa humana (Figura 5-7). Tiene alta biodisponibilidad oral y puede atravesar la barrera hematoencefálica y la placenta. Es una

droga 50 veces más potente que AZT como inhibidor de transcriptasa reversa, pero su uso indiscriminado produce rápidamente resistencia por una simple mutación aminoacídica. Es altamente efectiva en protocolos de prevención de infección vertical por HIV.

EFAVIRENZ. Este derivado de las benzoxazinonas (TIBO) conocido como Sustiva® o Stocrin®, es un potente inhibidor no nucleósido de la transcriptasa reversa (Figura 5-7). En combinación con otros antiretrovirales muestra una alta actividad inhibitoria y es capaz de suprimir la carga viral tan bien como los inhibidores de proteasa, cuando se utiliza junto a análogos de nucleósidos.

INHIBIDORES DE PROTEASAS. El primer inhibidor de proteasa licenciado por el USA *Food and Drug Administration* en diciembre de 1995 fue el el saquinavir. Su desarrollo comenzó en los 80s, al demostrarse que proteasas virales, codificadas por el gen pol cortan poliproteínas estructurales. En 1986 se demuestra que una mutación en la región proteasa del gen pol evita la acción de la proteasa sobre la poliproteína.

La proteasa del HIV puede cortar la poliproteína gag y gag-pol en 9 sitios diferentes, pero no tiene acción sobre proteínas humanas, de tal forma que los inhibidores de estas proteasas no alteran los procesos enzimáticos celulares. (Figura 5-8).

Estos antivirales deben utilizarse en combinación con análogos de nucleósidos en el tratamiento de la infección por HIV. Desde 1995 se han licenciado cuatro inhibidores de primera generación como saquinavir (Invirase®, Fortonase®), indinavir (Crixivan®), nelfinavir (Viracept®) y ritonavir (Norvir®), (Figura 5-15). Se dispone también de compuestos con dos inhibidores como lopenavir/ritonavir (Kaletra®) y drogas de segunda generación como amprenavir (Agenerase®) y atazanavir (Reyataz®). Los de primera generación producen muchos efectos adversos como lipodistrofia (distribución anómala de la grasa corporal), diabetes y cardiopatía. Los inhibidores de proteasa de segunda generación son de menor peso molecular y más selectivos, produciendo menos efectos adversos.

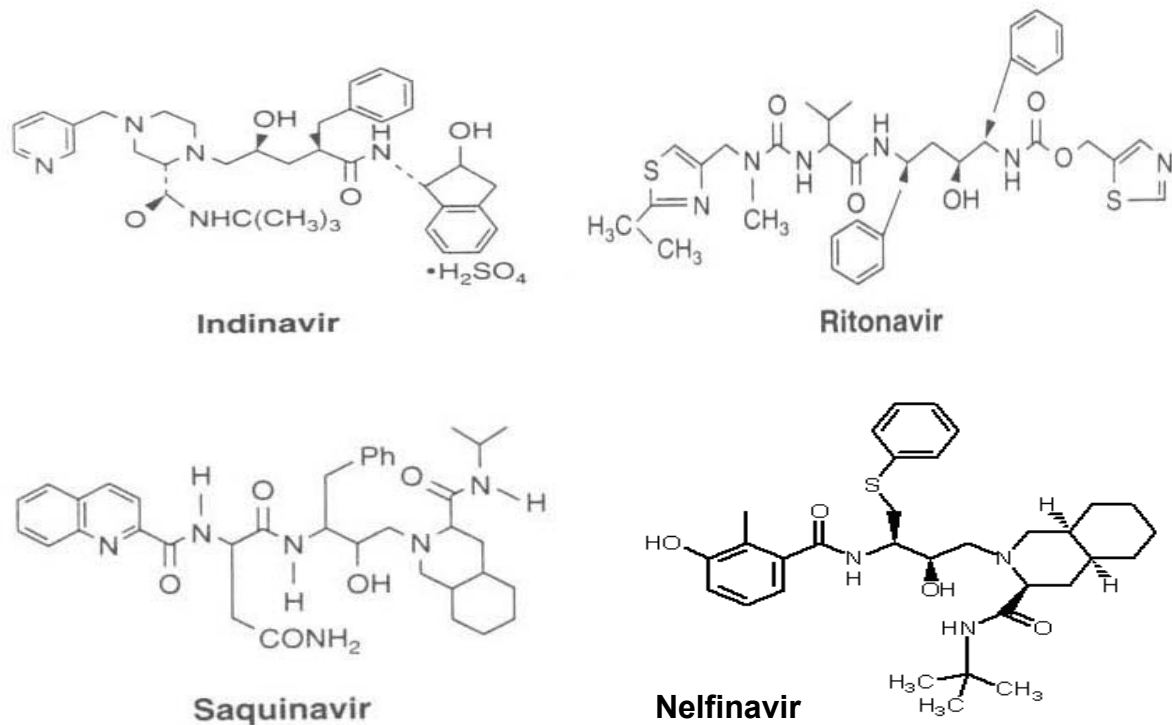


Figura 5-15. Estructura química de inhibidores de proteasas para HIV.

OTROS ANTIVIRALES DE USO CLÍNICO.

RIBAVIRINA. Es un derivado sintético similar a la guanina (Figura 5-2). Tiene un amplio espectro de acción *in vitro* contra virus DNA y RNA, incluyendo virus respiratorio sincicial (VRS), sarampión, influenza A y B, hepatitis A, HIV y otros. La ribavirina (Virazole®) es trifosforilada por enzimas celulares. El mecanismo de acción depende del virus sobre el cual actúa, entre los cuales se ha propuesto la inhibición de diversas enzimas celulares, por lo que es altamente tóxico. Si bien, esta droga puede administrarse por diversas vías, está aprobado su uso en aerosol para el tratamiento de la infección por VRS, y en forma parenteral en algunas fiebres hemorrágicas.

ADEFOVIR Y CIDOFOVIR. Ambos son análogos de nucleósido que tienen un amplio espectro de acción. Se han utilizado principalmente en

virus DNA y actualmente se realizan estudios clínicos para comprobar su eficacia en distintos virus. Cidofovir presenta alta actividad antiviral contra citomegalovirus y se dispone de implantes intraoculares de la droga para tratamiento de retinitis en pacientes inmunocomprometidos. También muestra actividad contra virus papiloma humano (HPV) y polliomavirus. Adefovir ha demostrado eficacia sobre HIV y hepatitis B (HBV). Sobre este último se realizan estudios de comparación entre la eficacia de adefovir y lamivudina.

INTERFERONES. Los interferones constituyen el primer mecanismo defensivo del huésped contra la infección viral. Naturalmente actúan en forma inespecífica contra cualquier virus, participando significativamente en el control de las infecciones virales y contribuyendo a la existencia de infecciones virales subclínicas.

Actualmente, una de las áreas de mayor interés es la relacionada con el estudio de la actividad antiproliferativa e inmunomoduladora del interferón en el tratamiento del cáncer humano. El IFN- α ha sido empleado como terapia para una variedad de tumores con mejores resultados que el IFN- γ . La actividad antiviral de IFN- α se ha demostrado en infecciones por virus hepatitis C (HCV), especialmente los nuevos interferones pegilados. Peginterferón- α -2a, con de moléculas de polietilén glicol adicionadas ha mejorado el perfil farmacocinético y terapéutico del interferón- α -2a y ha demostrado especial eficacia contra HVC.

CUESTIONARIO

1. Señale los problemas que existen para el desarrollo y uso de drogas antivirales.
2. Mencione las alternativas para el control de las infecciones virales.
3. Mencione las etapas del ciclo replicativo viral que pueden ser afectadas por drogas antivirales, señalando un ejemplo en cada caso.
4. ¿Cómo actúa y cuándo se utilizan los inhibidores de neuroaminidasa?
5. ¿Qué compuestos se utilizan como antivirales? Mencione un ejemplo de cada uno de ellos.
6. Describa brevemente el mecanismo de acción del aciclovir.
7. ¿Por qué el aciclovir es específico para el virus HSV?
8. ¿Contra qué virus es efectivo el ganciclovir, y por qué?
9. ¿Cómo actúan valaciclovir y valganciclovir?
10. Indique cómo afecta la zidovudina la replicación de HIV-1.
11. ¿Qué blancos utilizan los antiretrovirales. Mencione un ejemplo en cada uno de ellos..
12. ¿Cómo actúa el foscarnet y qué indicaciones de uso tiene?

VACUNAS

Dra. Carmen Larrañaga L.

Introducción:

Las enfermedades infecciosas virales ocurren como consecuencia de la interacción entre un hospedero susceptible, un agente viral y, el medio ambiente en que viven. En consecuencia, en el control de las enfermedades infecciosas existen diferentes estrategias que pueden ser abordadas, conociendo los mecanismos de interacción entre estos sistemas biológicos. Actualmente estas estrategias incluyen:

- 1.- Medidas de control y saneamiento ambiental (redes de alcantarillado y buena disposición de excretas, redes de agua potable, plantas de tratamiento de aguas servidas y reutilización de las aguas, redes adecuadas de recolección y disposición de basura, control de reservorios zoonóticos y humanos, etc).
- 2.- Medidas de higiene personal (educación de la población en prevención en salud, lavado de manos, buen manejo de los alimentos, medidas personales en riesgos específicos como la infección por HIV, etc.).
- 3.- Inmunización pasiva. Consiste en proporcionar anticuerpos exógenos a huéspedes susceptibles que no muestran memoria inmunológica por no haber tenido contacto con el agente infeccioso o porque su capacidad de respuesta inmune no ha alcanzado su madurez o se encuentra deprimida o lesionada. Los anticuerpos que se proporcionan pueden ser naturales como son los anticuerpos maternos durante la gestación o la lactancia, o, pueden ser aportados artificialmente como inmunoprofilaxis o inmunoterapia. Actualmente se dispone de diferentes alternativas para proporcionar anticuerpos preformados artificialmente y por diversas vías de administración. Estos anticuerpos son policlonales o polivalentes, anticuerpos hiperinmunes y anticuerpos monoclonales humanizados.
- 4.- Inmunización activa. La inmunidad activa se alcanza naturalmente cuando un huésped es desafiado por un agente infeccioso. Los antígenos extraños al sistema inmune inducen la respuesta inmunológica humoral y celular, como también la memoria inmunológica T dependiente. La inducción de esta respuesta inmune también se logra artificialmente a través de las **vacunas**.
- 5.- Tratamiento de las enfermedades infecciosas. Corresponde a la utilización de productos quimioprofilácticos y quimioterapéuticos que permiten la prevención o el tratamiento de la enfermedad infecciosa y su propagación. Estos productos están diseñados con el objeto de impedir la multiplicación del agente microbiano ya sea porque es capaz de lesionar la estructura del agente infeccioso, de disminuir sus procesos metabólicos que permiten su multiplicación celular (antimicrobianos) o de actuar en blancos específicos de replicación como es el caso de los virus, sin alterar los procesos metabólicos de las células del huésped.

Vacuna:

Se define como un producto biológico obtenido en forma natural o artificial desde un microorganismo completo o componentes de este, capaz de inducir

inmunidad activa en un hospedero susceptible y en consecuencia lo protege de un nuevo desafío con el virus silvestre (wilde type o w).

La inmunización activa mediante vacunas se remonta desde muy antiguo en la China y el Medio Oriente con la variolización, práctica utilizada por las observaciones clínicas, que consistía en la inoculación de costras de pacientes con viruela a personas sanas, para prevenir la enfermedad. El término de vacuna nace de las observaciones y trabajos de Edward Jenner, quien en 1798 plantea las bases de la inmunización activa artificial al observar que los ordeñadores de vacas no enfermaban de viruela. Las vacas infectaban a estos campesinos con viruela bovina, produciendo en ellos una enfermedad menor cuyas lesiones cutáneas pustulosas eran muy similares a las de viruela humana, pero sin la gravedad y efectos sistémicos de ella. Lo que Jenner observó es que la fiebre vacuna (viruela bovina) producía en humanos una enfermedad infecciosa atenuada y protectora de la viruela humana. Posteriormente demostró que un niño inoculado con material proveniente de lesiones pustulosas de los ordeñadores de vacas no presentaba viruela. De este modo logró introducir la primera vacuna atenuada heteróloga, que tiene la capacidad de inducir una inmunidad cruzada y memoria inmunológica que permite prevenir la enfermedad por viruela humana en un individuo expuesto al riesgo. Actualmente se sabe que existe comunidad antigénica entre las cepas de virus de viruela humana y viruela bovina. Posteriormente, Louis Pasteur muestra avances significativos en vaccinología en sus esfuerzos por combatir la rabia. Desde entonces los mayores logros de la humanidad en vacunas han sido desarrollados en la prevención de muchas enfermedades infecciosas y los resultados de más alto impacto han sido en prevenir diversas infecciones virales que han causado a lo largo de la historia una alta morbimortalidad, como viruela que ha sido eliminada, rabia, polio, sarampión, entre los ejemplos más significativos.

Actualmente las vacunas, para ser aplicadas deben cumplir con diferentes requisitos o características ideales, que permitan alcanzar el objetivo de inmunizar en forma activa a la población y de esta manera protegerla de los diferentes agentes infecciosos. Entre las características más importantes que debe poseer una vacuna destacan:

- ser un producto inocuo
- de fácil de administración
- que alcance un alto grado de protección
- que la protección que alcanza sea duradera
- si es posible que ingrese al organismo por vía natural, simulando al patógeno silvestre, de manera de inducir inmunidad sistémica y local, celular y humoral
- de bajo costo

Desde las primeras experiencias en vacunas, han sido muchas las estrategias utilizadas en su desarrollo y actualmente disponemos de dos tipos básicos de vacunas:

1.- Vacunas Infecciosas: (con capacidad de multiplicación o replicación en el huésped)

- Vacunas vivas atenuadas o modificadas (sarampión, rubéola, parotiditis, polio)

2.- Vacunas No Infecciosas: (sin capacidad de replicación en el huésped)

- Vacunas a agente completo inactivado o muerto (polio, influenza, rabia, hepatitis A)
- Vacunas a subunidades del agente infeccioso (influenza, hepatitis B)
- Vacunas a péptidos sintéticos
- Vacunas a DNA
- Vectores virales

Las estrategias utilizadas en el desarrollo de las vacunas son diversas. A los métodos clásicos en la obtención de vacunas se han agregado ahora métodos moleculares que han permitido productos más purificados, más inmunogénicos y con menos efectos adversos y secundarios.

Métodos de obtención de Vacunas:

1.- Vacunas Infecciosas

a) Métodos clásicos:

- Cepa o variante natural de otra especie (Variantes heterólogas)
- Cepa o variante naturalmente atenuada humana
- Atenuación por pasaje seriado en huéspedes de otra especie
- Atenuación por pasaje seriado en cultivos celulares
- Atenuación por mutación inducida químicamente
- Atenuación por mutación inducida físicamente (selección por temperatura)
- Atenuación por reagrupamiento genético

b) Métodos Moleculares:

- Atenuación por mutación o delección de genes cruciales
- Biosíntesis de agentes *in vivo* (vacunas recombinantes.)

2.- Vacunas No Infecciosas:

a) Métodos clásicos:

- Inactivación del agente completo por métodos químicos o físicos (calor, luz ultravioleta, formalina)
- Inactivación de subunidades (toxoides o inactivados)
- Subunidades o componentes altamente purificados
- Subunidades o componentes altamente conjugados

b) Métodos Moleculares:

- Síntesis química de péptidos o antígenos
- Biosíntesis de péptidos o antígenos utilizando vectores recombinantes
- Biosíntesis de Vectores virales
- Obtención de Anticuerpos antiidiotipos
- Síntesis de Acido nucleico (DNA)

Características generales de las vacunas y consideraciones para su desarrollo:

Las vacunas infectivas y no infectivas presentan características diferentes al ser aplicadas, producto de su capacidad o no de multiplicarse en el huésped susceptible.

Características de las Vacunas Infectivas y No Infectivas

Vacuna	Infectiva	No Infectiva
Replicación en el huésped	Si	No
Patogenicidad	Atenuada	No
Inmunidad que induce	Celular y humoral	Humoral
Inmunidad secretoria	Si	No
Protección	Duradera	Corta
Dosis del Inóculo requerido	Baja	Alta
Dosis de refuerzo	1 o más	Varias
Reversión a virulento	Posible	No
Contaminación con agente patógeno	No	Posible
Estabilidad	Baja	Alta

Además de las características generales del tipo de vacuna que se utilice y de los métodos de obtención de ellas se deben considerar otros aspectos en la producción y aplicación de las vacunas.

Consideraciones en la producción de vacunas:

1.- Cepa del agente infeccioso.

Para el caso de vacunas vivas la cepa elegida debe haber cumplido con los más altos estándares de seguridad. La vacuna que se aplique de esa cepa debe provenir de un *master stock* caracterizado y definido, con pasajes estables obtenidos desde huéspedes aceptados (humanos, animales o cultivos celulares), la cual deben estar libre de contaminantes y agentes adventicios. La o las cepas elegidas deberán contener todos los antígenos de las cepas silvestres circulantes más prevalentes de la comunidad donde se aplicará la vacuna, de manera que la inmunidad que induzca confiera la protección deseada. El título y el inóculo de la cepa que se aplique deberán ser conocidos y definidos previamente según ensayos de inmunoprotección.

2.- Fuente de obtención.

La fuente desde donde se obtiene la cepa o subunidad elegida debe ser de fácil disponibilidad y genéticamente estable. Debe carecer de potencial oncogénico y de otros agentes biológicos o infecciosos contaminantes. Actualmente estas fuentes son preferentemente células humanas diploides.

3.- Método de purificación.

Este proceso permite eliminar todos los microorganismos adventicios y componentes celulares para obtener un producto vacuna altamente purificado y seguro, que minimice el riesgo de efectos adversos como son las reacciones de hipersensibilidad.

4.- Producto inmunogénico.

La vacuna debe contener todos los epítomos necesarios, capaces de inducir una respuesta inmune protectora y eficaz contra el agente infeccioso silvestre.

5.- Beneficio *versus* riesgo.

Antes de la aplicación de la vacuna deben considerarse todos los beneficios que puede alcanzar respecto de la protección que se desea y contrarrestarlos con los riesgos de enfermar por la aplicación de la vacuna, sean estos efectos menores o mayores.

Consideraciones en la aplicación de vacunas:

Una vez obtenida una vacuna, su aplicación en humanos, ya sea a nivel de la comunidad o en forma individual, requiere también de diversas consideraciones para ser finalmente aplicada:

1.- Disposición de una buena vacuna.

Una buena vacuna debe ser un producto que cumpla con los siguientes requisitos:

- a) Ser un buen inmunógeno: molécula capaz de inducir una respuesta inmune. Si bien todos los antígenos son capaces de inducir una respuesta inmune defensiva, no todos son capaces de inducir memoria T-dependiente. Existen antígenos que inducen una respuesta inmune T-independiente. Estos antígenos dificultan su aplicación como vacunas, especialmente en menores de 2 años, que no han alcanzado una madurez inmunológica, o en personas inmunosuprimidas con poca o nula memoria inmunológica.

Antígenos T-dependientes: En su mayoría estas moléculas son proteínas que inducen la formación de anticuerpos por los Linfocitos B, por su interacción con Linfocitos T. Resultan buenos inmunógenos en menores de 2 años y dejan memoria inmunológica

Antígenos T-independientes: En su mayoría son moléculas de alto peso molecular, con subunidades repetitivas, como por ejemplo los polisacáridos de las bacterias que inducen la formación de anticuerpos desde el Linfocito B en forma independiente del Linfocito T. Por lo mismo resultan inmunógenos débiles en menores de 2 años y no dejan memoria inmunológica. Estas moléculas se pueden transformar en T dependientes al ser conjugadas con proteínas, aumentando su inmunogenicidad.

- b) Ser protectora: la respuesta inmune que alcanza protege de la enfermedad.
- c) Ser eficaz: cuando la vacuna protege a una población en estudio, que está controlada con casos y controles, durante la evaluación de la vacuna.
- d) Ser efectiva: cuando una vacuna protege a una población al ser utilizada en una comunidad no controlada.
- e) Ser segura: que una vacuna no muestre efectos adversos o secundarios

2.- Epidemiología.

Cada país debe evaluar la distribución geográfica mundial y la realidad epidemiológica nacional de los diversos microorganismos circulantes, antes de decidir la utilización de una vacuna, conociendo los riesgos y beneficios de su aplicación y calculando el impacto individual y público que puede alcanzar.

3.- Población en riesgo de enfermar.

Se debe conocer la población que se desea proteger. Esto es protección universal, por edad, sexo o por riesgo específico (laboral, viajes, conductas, enfermedades subyacentes, etc.).

4.- Cálculo de Coberturas deseadas para obtener impacto.

Una vez conocida la población a vacunar, se debe calcular el porcentaje de individuos de esa población que deben recibir vacuna para proteger de una enfermedad específica .

5.- Vías de administración.

De acuerdo a la disponibilidad de los tipos de vacunas, su estabilidad en el medio, sus vías de administración y de los recursos que se cuenten se definirá la vía de administración en una población específica.

6.- Dosis de refuerzo.

Depende de la duración y tipo de inmunidad que induce la vacuna.

7.- Conservación de las vacunas.

Las vacunas deben mantenerse estables y con la dosis adecuada desde su producción hasta su aplicación. En este aspecto es fundamental el almacenamiento y transporte de las dosis vacuna, que deben cumplir con estrictas condiciones de conservación. Estas condiciones corresponden a la cadena de frío. De lo contrario, su aplicación no logrará la protección deseada o estará inhabilitada para ser colocada.

El proceso de investigación hasta la distribución de una vacuna es largo y requiere cumplir con diversas etapas bien definidas:

1.- Diseño microbiológico de una vacuna.

Comprende el estudio del agente infeccioso, en cuanto a su estructura, genética, patogenicidad y antígenos más relevantes desde el punto de vista de la respuesta inmune, como también del método que se utilizará en la producción del producto vacuna.

2.- Estabilidad de la vacuna.

Una vez diseñada y obtenida la vacuna se realizan varios ensayos para asegurar que la producción de la vacuna sea sostenida en el tiempo, estable, que no revierta a virulento en el caso de las vacunas infectivas y no contenga contaminantes, especialmente agentes adventicios.

3.- Ensayos en animales.

En esta etapa la vacuna se prueba en animales, donde se demuestra que el producto obtenido es verdaderamente capaz de inducir la respuesta inmune deseada con altos títulos de anticuerpos protectores contra la enfermedad.

Para evaluar una vacuna, ésta tiene que cumplir con algunos requisitos y pasar por ciertas etapas:

1.- La primera etapa es microbiológica; en esta fase se ve en qué está basada la vacuna desde el punto de vista microbiológico.

2.- La vacuna tiene que ser estable especialmente si es viral, es decir, el virus no puede recuperar la virulencia.

3.- Luego hay que hacer ensayos en animales de experimentación. La vacuna tiene que tener la garantía que se ha hecho experiencias en animales que demuestren que la vacuna es capaz de inducir tasas de anticuerpos suficientemente altas como para que sean protectores.

Una vez cumplidas las etapas en el Laboratorio de Investigación y Diseño de una vacuna esta pasa a una nueva etapa que contempla diversas Fases de Prueba en humanos.

1.- Fase I. Estudios de Inmunogenicidad.

En esta fase se investiga el comportamiento de la vacuna en seres humanos. En ella se mide la capacidad de la vacuna de ser inmunogénica. Esto es, si es capaz de inducir la producción de anticuerpos en humanos. Estas pruebas inicialmente se realizan en población voluntaria adulta seleccionada y posteriormente se extiende de acuerdo a resultados a población adulta más heterogénea, pero controlada y si es posible a niños.

2.- Fase II. Estudio de Eficacia.

En un estudio controlado caso-control se mide el comportamiento de la vacuna en el tiempo, para evaluar el grado de protección que alcanza contra la enfermedad que sea deseada proteger en una población determinada. En este caso se compara el grado de protección que alcanza la vacuna en población controlada vacunada *versus* población controlada no vacunada.

3.- Fase III. Estudio de Efectividad.

En este estudio se observa el comportamiento de la vacuna en la población general, para la cual fue diseñada la vacuna, sin el sesgo que tiene implícita una investigación. En cada etapa además se registra la seguridad del producto vacuna. Una vacuna se considera buena si la efectividad es mayor a 70%. Es decir, si es capaz de proteger al menos al 70% de la población vacunada. Es regular si sólo protege al 65-69% y no es efectiva si protege a menos el 65% de la población vacunada.

Por otra parte, existen contraindicaciones generales en la aplicación de las vacunas como es la presencia de una enfermedad febril aguda, antecedentes de una reacción anafiláctica a dosis previas de una vacuna o de algunos componentes de la vacuna. También existen algunos mitos en relación al uso de una vacuna como es una virosis respiratoria o diarrea simple en curso, la convalecencia de una enfermedad aguda, la lactancia materna, el uso de antibióticos, etc.

Finalmente existe la probabilidad de interferencia entre las vacunas cuando la aplicación de ellas se ha atrasado. Para cumplir con las vacunas que se indican en el PAI o introducir otras vacunas no incluidas en el PAI se pueden utilizar esquemas de vacunación en tiempos más acortados sin que ocurra interferencia entre las vacunas. Estos esquemas se pueden indicar, teniéndose presente las siguientes observaciones:

- Las vacunas del PAI se pueden asociar
- Las vacunas vivas infectivas requieren de al menos 30 días de intervalo entre la colocación de una y otra para que no ocurra interferencia entre las vacunas y no se obtenga la respuesta inmune deseada (Ej: BCG y Trivírica)
- En las vacunas no infectivas no ocurre interferencia, especialmente si el producto vacuna es una proteínas (Ej: Hepatitis B)
- Se pueden indicar esquemas acortados cada 30 días de vacunas combinadas como DTP, HiB y polio

También puede ocurrir interferencia entre la administración de vacunas e inmunoglobulinas. Después de administrada una vacuna, el paciente no puede recibir inmunoglobulina hasta dentro de dos semanas, porque los anticuerpos aportados neutralizarán los antígenos contenidos en la vacuna y no se inducirá la respuesta inmune esperada. En forma inversa, si un paciente ha recibido inmunoglobulina, no podrá ser vacunado hasta 6 semanas después de haber recibido la inmunoglobulina.

Vacunas utilizadas en Chile de acuerdo a su composición

1.- Microorganismos vivos atenuados.

Bacterias: Tuberculosis
Cólera oral
Fiebre Tifoidea oral

Virus: Sarampión
Parotiditis
Rubeola
Polio oral
Varicela

2. Microorganismos enteros inactivados.

Bacterias: Bordetella pertussis
(completa)
Cólera
Fiebre Tifoidea parenteral

Virus: Polio parenteral.
Influenza.

2. Subunidades de Microorganismos.

Polisacáridos: Neumococo
Meningococo
Fiebre Tifoidea

Proteínas: Difteria (toxoides)
Tétanos (toxoides)
Bordetella pertussis acelular
Hepatitis B (recombinante)
Influenza (virus fraccionado)

Conjugadas Haemophilus influenzae B
(Polisacáridos + Proteínas) Pneumococo

Vacunas del Programa Ampliado de Inmunizaciones: (PAI, Chile 2003)

El calendario actual de las vacunas que se aplican en Chile de acuerdo al Programa ampliado de Inmunizaciones se muestran en la siguiente tabla:

Calendario de Inmunizaciones, Chile 2003

Edad Administración	Vacuna					
	BCG	DPT (Triple)	Polio OPV	HiB	Trivírica	DT (Mixta)
R. Nacido	+					
2 meses		+	+	+		
4 meses		+	+	+		
6 meses		+	+	+		
12 meses					+	
18 meses		+	+			
4 años		+	+			
1° básico	+				+	
2° básico						+

BCG: Bacilo Calmette Guérin

HiB: Haemophilus influenza tipo B

DPT: Difteria, Pertussi, Tetanos (Triple) Trivírica: Sarampión, Rubéola, Parotiditis

Polio: Polio trivalente, Sabin u oral

DT: Difteria, Tétanos (Mixta)

En la descripción de las vacunas contenidas en el PAI, sólo abordaremos las vacunas virales

1.- Vacuna Polio:

La primera vacuna anti-poliomielitis nace con la vacuna Salk o inactivada (IPV) en 1955. En 1960 emerge la vacuna infectiva atenuada oral, Sabin. Ambas dan cuenta, junto con la vacuna viruela (Vaccinia) de uno de los mayores éxitos que ha tenido la humanidad en el control de enfermedades infecciosas. Las vacunas de Salk y Sabin han logrado erradicar virus polio en las Américas (1994) y muchas otras regiones del mundo, quedando algunos pequeños bolsones de tan cruel enfermedad. En 1991, en América se registró el último caso de polio parálitica en Perú.. Para el año 2000 la OMS había programado proclamar al mundo libre de polio, objetivo que está por cumplirse.

Las características de la vacuna infectiva polio oral (OPV o Sabin) son:

La dosis de vacuna polio oral (2-3 gotas) contiene virus polio infectivo, serotipos I, II y III en las siguientes concentraciones (TCID₅₀: Dosis infectante del 50% del cultivo celular): Serotipos I 1.000.000 TCID₅₀, II 100.000 TCID₅₀ y III 300.000 TCID₅₀. El programa de vacunación contempla la administración de 5 dosis. Induce un respuesta inmune activa con la producción de anticuerpos protectores séricos y locales (anticuerpos secretorios de mucosas), que es duradera y T dependiente. Alcanza una inmunogenicidad mayor de 95% con tres dosis, para los tres serotipos. Es eficaz y efectiva; mayor del 95%, en vacunados, ha logrado eliminar virus polio silvestre de vastas regiones del planeta. Es una

vacuna segura con un riesgo de reversión a virulenta y parálisis por vacuna (menos de un evento por sobre 1 millón de niños vacunados).

Las características de la vacuna no infectiva polio inyectable (IPV) son:

La dosis de vacuna polio inyectable SC o IM (0.5 ml) contiene virus polio, serotipos I, II y III inactivado en formaldehído en las concentraciones de antígeno necesario para satisfacer las normas mundiales de antigenicidad. El programa de vacunación con IPV exclusiva contempla la administración de 3 dosis en la primovacuna, un refuerzo un año después de la tercera dosis y luego cada 5 a 10 años. También se ha recomendado su uso en países libres de polio en esquemas mixtos con OPV. Esto en 2 dosis iniciales de IPV (2 y 4 meses de edad), seguidas de OPV (6 y 18 meses de edad). Esta conducta induce una respuesta inmune activa protectora con la producción de anticuerpos séricos exclusivamente, T dependiente. Alcanza una inmunogenicidad mayor al 95%, con tres dosis, para los tres serotipos. Es eficaz y efectiva en proteger a la población vacunada y altamente segura. Como vacuna no infectiva puede utilizarse en inmunocomprometidos.

Ventajas y desventajas de OPV e IPV:

OPV		IPV	
Ventajas	Desventajas	Ventajas	Desventajas
Bajo Costo		Bajo costo	
Vía oral de administración			Administración inyectable
	Alta exigencia en la conservación de la vacuna	Menores exigencias en la conservación de la vacuna	
	Reversión de neurovirulencia	No revierte a virulenta	
Induce respuesta sérica y de mucosas			Sólo induce inmunidad sérica
Diseminación fecal-oral a contactos susceptibles	Diseminación fecal-oral a contactos susceptibles	No se disemina a contactos susceptibles	No se disemina a contactos susceptibles
	Contraindicada en Inmunocomprometidos	Indicada en Inmunocomprometidos	
	Contraindicada en embarazadas		
Erradica virus silvestre			No erradica virus silvestre

En Chile aún se evalúa las ventajas de utilizar un esquema mixto de OPV con IPV. Poder contar en el país con IPV es beneficioso tanto en la población general como para los inmunocomprometidos.

2.- Vacuna Trivírica: (Sarampión, Rubéola, Parotiditis, del inglés MMR).

La vacuna Trivírica corresponde a una vacuna infectiva que contiene los virus sarampión, rubéola y parotiditis atenuados. Se trata de una vacuna liofilizada que cada dosis de 0.5 ml contiene no menos de 1000 TCID₅₀ de virus sarampión cepa atenuada Schwartz, 5.000 TCID₅₀ de virus parotiditis de la cepa atenuada Urabe Am-9 y 1.000 TCID₅₀ de virus rubéola de la cepa atenuada Wistar RA 27/3. Su administración es inyectable, subcutánea y su conservación requiere de una cadena de frío en óptimas condiciones.

La vacuna Trivírica induce seroconversión en más del 95% de los vacunados. La inmunidad que alcanza es prolongada y los efectos adversos de muy baja frecuencia y poco severos (dolor en el sitio de la vacuna, fiebre desde el quinto día posvacuna, exantema leve y no generalizado, cefalea, coriza y malestar general). Es poco frecuente la convulsión febril y reacciones articulares. Eventos más severos e indeseables son la encefalitis o meningitis que se puede presentar hasta 30 días después de la vacuna o sordera unilateral por virus parotiditis. Las contraindicaciones a su uso son la alergia comprobada a la proteína del huevo y neomicina, embarazadas e inmunocomprometidos.

Vacunas No disponibles en el Programa Ampliado de Inmunizaciones: (No PAI, Chile 2003)

El calendario actual de las vacunas que se aplican en Chile no contiene algunas vacunas de probada eficacia, que están licenciadas en nuestro país y que se aplican en forma privada. Sin embargo, estas vacunas están en permanente revisión por el Ministerio de Salud, de manera de ir introduciéndolas paulatinamente, de acuerdo a la realidad epidemiológica de las enfermedades infecciosas no cubiertas por el PAI y la relación costo-beneficio de ser aplicadas en forma universal.

Al igual que en el caso anterior, para la descripción de las vacunas No PAI, abordaremos sólo las virales.

1.- Vacuna Hepatitis A

El desarrollo de la Virología ha permitido la identificación de diversos virus hepatotropos. La forma de presentación y curso clínico de las hepatitis virales es variable y dependientes del agente etiológico. En Chile, de los distintos virus hepatotropos, el virus Hepatitis A (HAV) es el más frecuente. El mejor nivel de vida y la implementación de mejores condiciones de saneamiento ambiental logradas por nuestro país en los últimos años, ha permitido situarnos desde un país de alta endemicidad de Hepatitis A a un país de endemicidad intermedia, donde los brotes epidémicos representan un problema de salud pública. Por otra parte, existe otro riesgo, cual es el desplazamiento de la hepatitis A a individuos mayores de 15

años. Hace 20 años la prevalencia de anticuerpos anti-Hepatitis A en la población chilena era mayor al 90% en mayores de 15 años, mientras que hoy depende del nivel socioeconómico y condiciones higiénicas de los individuos. De esta manera, en niveles socioeconómicos medios y altos se encuentra una prevalencia menor del 50% a la misma edad y mayor al 70% en la población de menores ingresos. Así, la presencia de un mayor número de susceptibles mayores de 15 años tiene el riesgo de que ocurra primoinfección por HAV a edades mayores, donde la Hepatitis por HAV muestra una evolución menos benigna. Entre las medidas de control de la infección por HAV se cuenta con la educación en las medidas de higiene, la mejoría del saneamiento ambiental, la adecuada eliminación de aguas servidas, la utilización de aguas no contaminadas en el riego de hortalizas, el uso de inmunoglobulina corriente y la aplicación de una vacuna eficaz. Se ha demostrado la eficacia de la aplicación de vacuna en un país de endemicidad intermedia en el control de brotes. Sin embargo, la aplicación de la vacuna en esta situación debe acompañarse de las otras medidas, para tener éxito.

La vacuna para HAV es una vacuna no infectiva que se obtiene por la inactivación del virus con formaldehído. Cada 1 ml de dosis de vacuna IM para mayores de 15 años contiene 1440 unidades de antígeno de HAV e hidróxido de aluminio como coadyudante. En menores de 15 años se indica 0.5 ml de vacuna con 720 unidades de antígeno. La licencia de la vacuna permite indicarla desde los 2 años de vida, si bien no existe inconveniente para indicarla desde el primer año de vida, ya que el procedimiento de inactivación que se utiliza es el mismo de la vacuna polio inactivada. Por tratarse de una vacuna inactivada requiere de dos dosis con un intervalo de 6 meses para alcanzar una eficacia del 95% en los vacunados. Hasta ahora se ha demostrado que la inmunogenicidad protectora que alcanza tiene una duración de al menos 20 años. Los efectos adversos que se observan son menores; entre un 21-56% presenta reacción local en el sitio de inoculación y un 4% presenta fiebre.

2.- Vacuna Hepatitis B

El virus Hepatitis B (HBV), se puede obtener desde cualquier fluido corporal en individuos infectados por este virus. Su transmisión ocurre persona a persona por mecanismo sexual, parenteral y vertical. Chile es un país de baja prevalencia de HBV. El antígeno de superficie (HbsAg) tiene una prevalencia de 0.3% en población mayor de 15 años y el anticuerpo anti-core no supera el 1%. La infección por HBV establece infecciones persistentes en el 10% de los adultos que se infectan y en más del 90% de los niños infectados por vía vertical. La infección persistente puede desencadenar el desarrollo de daño hepático crónico y cirrosis como consecuencia clínica. Es también un virus oncogénico, causante de hepatocarcinoma primario. Esto es porque el DNA viral es capaz de integrarse al DNA del hepatocito. De esta manera la expresión de proteínas virales puede alterar la regulación de genes celulares supresores de tumores, favoreciendo la proliferación celular descontrolada y el desarrollo de hepatocarcinoma.

En 1995 la OMS recomendó la aplicación de la vacuna para HBV en forma sistemática en todos aquellos países con portación de antígeno de superficie

mayor al 8% de la población. En 1997, por los cambios que se producen en la conducta sexual, el aumento de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), el aumento de las enfermedades de transmisión sexual, la mayor movilidad de las personas y los efectos de la globalización mundial, la OMS hace una nueva recomendación. Esta es, establecer la vacunación sistemática para HBV, independientemente de la prevalencia observada del antígeno de superficie.

La vacuna HBV es una vacuna obtenida a través de tecnología molecular, que utiliza técnicas de DNA recombinante. El producto vacuna obtenido, corresponde al HBsAg que induce inmunidad protectora en el individuo vacunado. Una dosis de vacuna IM para mayores de 15 años contiene 20µg de HBsAg recombinante y una dosis pediátrica para menores de 15 años de 10µg de HbsAg recombinante. La indicación de 3 dosis IM, en los tiempos 0,1 y 6 meses alcanzan una eficacia mayor del 90% en población vacunada. Los efectos adversos son menores. Un 20-30% muestra dolor local en el sitio de inoculación y menos del 1% fiebre y mialgias. La vacuna para HBV se puede indicar en el calendario habitual de inmunizaciones desde la edad de recién nacido. Habitualmente se implementa desde el primer año de vida.

Una indicación especial de aplicación de la vacuna para HBV es el hijo de madre HbsAg positiva. La madre puede transmitirle la infección vía transplacentaria, durante el parto y a través de la leche materna, especialmente si la madre además presenta el HbeAg (antígeno e) positivo. Este marcador indica una activa replicación viral y alta transmisibilidad. Las medidas de protección de la infección por HBV del recién nacido deben instalarse rápidamente y en forma acuciosa. De lo contrario el riesgo de evolucionar con una enfermedad hepática crónica es superior al 90% con una mortalidad a mediano o largo plazo mayor del 90%. Las medidas de control que se indican son:

- Uso de Inmunoglobulina hiperinmune para HBV antes de las 12 primeras horas de vida
- Uso de vacuna HBV (3 dosis): la primera dosis antes de los primeros 7 días de vida, la segunda dosis al mes de la primera dosis y la tercera dosis, seis meses después de la primera dosis.
- Suspensión de la lactancia materna, al menos hasta haber recibido dos dosis de vacuna.

3.- Vacuna Varicela-Zoster:

El virus Varicela-Zoster pertenece a la familia Herpetoviridae y se trata de un virus DNA con manto que establece infecciones persistentes latentes. La forma clínica de la primoinfección es la varicela, después de ella se establece latencia en ganglios sensitivos y las reactivaciones ocurren como herpes zoster. La varicela, a menudo una enfermedad benigna, puede evolucionar con complicaciones severas, especialmente en inmunocomprometidos y personas adultas. Las complicaciones más frecuentes de la varicela son:

- Infecciosas:
 - o Infecciones secundarias de la piel (Streptococcus, Stafilococcus)
 - o Bacteremias
 - o Neumonía

- Artritis
- Osteomielitis
- Respiratorias
 - Neumopatía mixta
- Neurológicas
 - Ataxia cerebelosa
 - Meningoencefalitis
 - Mielitis transversa
 - Síndrome de Reye
- Gastrointestinales y Renales
 - Hepatitis
 - Nefritis
 - Síndrome Nefrótico
 - Síndrome Hemolítico Urémico
- Otras: Artritis, miocarditis, pericarditis, pancreatitis, orquitis, púrpura fulminante
- En Inmunocomprometidos
 - De curso más severo y eventualmente fatal, la duración puede ser de dos o más semanas y las lesiones son más severas, umbilicadas y hemorrágicas
 - Puede debutar con una forma aguda, con coagulación intravascular diseminada y de curso fatal
 - La neumonía por varicela se presenta con mayor frecuencia en pacientes inmunocomprometidos
 - En niños leucémicos muestra una frecuencia de diseminación de 30% y mortalidad de 7% sin tratamiento antiviral oportuno
 - En niños con VIH, se observan formas severas en la etapa de SIDA

El objetivo de usar vacuna para varicela es en consideración de estas complicaciones, especialmente para prevenir estas complicaciones en personas inmunodeprimidas. La relación costo-beneficio resulta positiva considerando los costos indirectos derivados de las complicaciones, pero la aplicación universal de la vacuna no cubre todavía los costos directos que implica la vacunación *versus* la varicela sin complicaciones propia de la infancia.

La vacuna para varicela de administración subcutánea es una cepa naturalmente atenuada, la cepa OKA, aislada hace más de 20 años en Japón, que a su vez es capaz de establecer latencia. Fue introducida en Estados Unidos en Marzo de 1995. Es una vacuna protectora contra formas graves de varicela y altamente eficaz en inmunocomprometidos. Está indicada desde los 12 meses de edad en individuos que no hayan presentado varicela. Alcanza una inmunogenicidad del 95% con una dosis en personas menores de 13 años y entre un 75-82% en mayores de 13 años e inmunocomprometidos con una dosis. Esta cifra se eleva a más del 94% con dos dosis. La eficacia posvacunación a 7-10 años es de un 70-90% de protección a la infección natural y de 95% de protección de enfermedad severa. Los efectos adversos más comunes son fiebre, exantema, edema, eritema y dolor en sitio de inoculación.

Las indicaciones más estrictas de vacuna varicela son:

- Adolescentes y adultos (mayores de 13 años) que no hayan tenido varicela
- Inmunocomprometidos
 - o con neoplasia linfocítica
 - o transplantados de médula ósea
 - o con agentes citotóxicos
 - o con esteroides orales
 - o con inmunodeficiencias primarias

Las indicaciones aprobadas para su uso en Chile son:

- Niños sanos, de 9 meses a 12 años.
- Adolescentes susceptibles.
- Contactos susceptibles de pacientes inmunosuprimidos.
- Inmunosuprimidos seronegativos previo a trasplante de órganos, leucemia en remisión (linfocitos > 1.200 , sin terapia de mantención)

Las contraindicaciones para su uso son:

- Embarazadas
- Inmunodeprimidos (consideraciones especiales)
 - o Leucemia linfoblástica aguda
 - o VIH
 - o Usuarios de corticoides
 - o Usuarios de inmunoglobulina
 - o Enfermedades intercurrentes (febriles o no)
 - o Alergia a sus componentes

4.- Vacuna Influenza:

La influenza continúa siendo un problema de salud pública en todo el mundo, que requiere de una vigilancia estrecha, para detectar variaciones que se traducen en epidemias o pandemias y que alcanzan una alta mortalidad, especialmente en grupos de riesgo. Por las características estructurales de estos virus, esto es su RNA genómico fragmentado, ocurren variaciones antigénicas permanentes, dadas por las mutaciones que sufre el virus o por las recombinaciones que suceden entre virus influenza que infectan humanos y otras especies como aves, cerdos y otros. La respuesta inmune protectora del huésped es subtipo específica y está dirigida contra los antígenos superficiales del virus; los antígenos hemaglutinina (H) y neuroaminidasa (N), que son los que sufren los mayores cambios. Con estos cambios el sistema inmune no reconocerá nuevas variantes de virus influenza y se producirá una nueva infección por este agente.

Las vacunas actualmente disponibles son vacunas no infectivas por virus inactivados completos o vacunas no infectivas particuladas, que se producen de acuerdo a la vigilancia de cepas de virus influenza que determina los subtipos de influenza que están circulando en el mundo. Este trabajo está regulado por la OMS, de manera que las vacunas que se producen y se aplican siguen estrechamente las recomendaciones anuales de este organismo internacional. En

consecuencia, virus influenza obliga a mantener una vigilancia de los tipos y subtipos circulantes como de la producción y vacunación anual de las personas, especialmente de grupos de alto riesgo. Estas vacunas inactivadas alcanzan una protección no mayor de 80% con una dosis en adultos y son significativamente menos protectoras en niños. En estudios bastante avanzados se encuentran nuevas vacunas que induzcan una inmunidad protectora tipo específica, esto es contra antígenos de la nucleocápside viral que determina los tipos de Influenza A, B y C.

Los grupos de riesgo que deben ser anualmente vacunados para reducir la mortalidad por influenza son:

- Mayores de 65 años
- Enfermedades respiratorias crónicas
- Cardiopatías
- Enfermedades renales crónicas
- Diabetes mellitus
- Inmunocomprometidos
- Personal de salud

La vacuna influenza debe ser administrada anualmente en personas de riesgo. En nuestro país esto se realiza a comienzos del otoño (Marzo-Abril), previo a los brotes de influenza que comienzan generalmente a fines de otoño (Mayo-Junio). Los adultos que se vacunan por primera vez reciben una dosis anual, mientras que los niños menores de 9 años que se vacunan por primera vez deben recibir dos dosis con un intervalo de 30 días y luego continuar con una dosis anualmente.

La vacuna influenza se produce a partir del cultivo de las cepas virales recomendadas en huevos embrionados. De manera, que está contraindicado su uso en personas que tengan antecedentes de reacciones anafilácticas a proteínas del huevo. Entre los efectos adversos están la reacción local al sitio de la inyección SC o IM, fiebre dentro de las primeras 48 horas, mialgias y malestar general similar a la gripe.

Asociación de Vacunas

1.- Vacunas simultáneas: vacunas que se administran al mismo tiempo y se inoculan en diferentes sitios de la economía, como por ejemplo DTP y Polio oral

2.- Vacunas combinadas: el producto vacuna contiene una mezcla de diferentes vacunas que se administran al mismo tiempo y en el mismo inóculo, como por ejemplo la vacuna Trivirica o DTP.

La tendencia actual e ideal es de producir vacunas combinadas. Las ventajas de las vacunas combinadas son:

- Mejorar las coberturas y el cumplimiento de los programas
- Mejorar la adherencia
- Disminuir los costos en la conservación y administración de las vacunas

- Disminuir los errores de aplicación de las vacunas
- Disminuir el número de dosis que se administra
- Permitir introducir nuevas vacunas en los programas que se aplican

Las combinaciones actualmente disponibles son:

- 1.- Vacunas 2 valente:
 - Hepatitis A y B (HAV-HBV)
- 2.- Vacunas 3 valentes:
 - DTP
 - DTPa
 - MMR
- 3.- Vacunas 4 valentes:
 - DTP-Hib
 - DTPa-Hib
 - DTPa-IPV
 - DTPa-HBV
 - MMR-V
- 4.- Vacunas 5 valentes:
 - DTP-Hib-IPV
 - DTPa-IPV-Hib
 - DTPa-IPV-HBV
- 5.- Vacunas 6 valentes:
 - DTPa-IPV-HBV-Hib

Conclusión:

Las inmunizaciones protegen al ser humano de un número importante de patógenos que hasta décadas pasadas producían una alta mortalidad y morbilidad. Con la introducción de las vacunas disminuyó la mortalidad infantil y se elevaron las expectativas de vida.

Las tendencias actuales en inmunizaciones son:

- Reemplazo de DTPw por DTPa
- Introducción de vacunación universal contra la hepatitis B
- Introducción de vacunación universal contra Haemophilus influenza
- Cambio de OPV a IPV en polio
- Introducción vacuna varicela
- Introducción vacuna pneumococo
- Ampliar las inmunizaciones en adultos

Bibliografía

- 1.- Active Immunizing Agents. In Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Feigin R.D, Cherry J.D.4th Edition. WB Saunders Company, 1998, pag. 2731-2769
- 2.- Inmunización Activa y Pasiva. En Red Book, Enfermedades Infecciosas en Pediatría. Pickering L.K., Peter G., Baker C.J., Gerber M.A., Macdonald N.E. 25^{ava} Edición. Edición Médica Panamericana, 2001, pág 1-74.



DIAGNÓSTICO VIRAL

Versión de Lufi 2004

El diagnóstico virológico comprende la detección e identificación del agente etiológico de una infección viral, clínica o inaparente, y /o de la respuesta inmune específica del huésped.

La primera etapa la constituye el diagnóstico viral clínico, que generalmente tiene un carácter de orientación. Se basa principalmente en el cuadro clínico y considera los antecedentes personales y familiares, además de la situación epidemiológica; a menudo se recurre además al laboratorio clínico general. En muchas circunstancias este diagnóstico clínico puede ser suficiente, como en sarampión, hepatitis, varicela, etc. Sin embargo, cada día se observa con mayor frecuencia la asociación de virus con diversos cuadros clínicos, incluso muy severos, en los que el estudio específico de laboratorio virológico se hace indispensable como medio diagnóstico, de control evolutivo, con fines epidemiológicos, etc. Hoy día, el avance de las técnicas diagnósticas ha demostrado que hasta los cuadros más típicamente asignados a una etiología pueden ser causados por otros agentes: las enfermedades son realmente síndromes

Las aplicaciones del diagnóstico virológico son variadas y dependen de los medios disponibles y de las circunstancias que ameriten un diagnóstico etiológico específico. En salud pública se utiliza habitualmente en programas de vigilancia epidemiológica (ej: poliomielitis, influenza, hantavirus, VIH, etc.) y en el control de vacunas mediante censos serológicos, como polio, parotiditis y sarampión. En medicina curativa la necesidad del diagnóstico virológico alcanza a todas las disciplinas: pediatría, obstetricia, medicina, cirugía, dermatología, etc. El aumento de la población de inmunocomprometidos ha creado nuevos problemas por la aparición de cuadros clínicos atípicos y la emergencia de nuevas cepas microbianas. El gran desarrollo de las técnicas de diagnóstico virológico ha permitido ofrecer actualmente una ayuda directa al médico clínico y ha facilitado la investigación en salud, posibilitado su aplicación en muchos campos. Actualmente el médico clínico puede tratar con nuevos antivirales y controlar el curso de muchas infecciones virales, como SIDA, hepatitis B o C, etc. En el presente existe comercialmente una gran variedad de técnicas que pueden implementarse en laboratorios clínicos, por lo que se requiere conocer sus características para seleccionar las de mayor aplicabilidad.

El diagnóstico definitivo requiere un análisis de correlación entre los antecedentes clínicos personales, familiares, epidemiológicos y los resultados del laboratorio virológico, considerando la oportunidad y calidad de la muestra, las propiedades de las técnicas utilizadas y la experiencia acumulada al respecto. La conclusión final depende entonces de un trabajo profesional multidisciplinario, más que de una cifra aportada por una moderna máquina automatizada..

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Los métodos de diagnóstico viral se basan fundamentalmente en:

- a) Detección del agente viral completo o de sus componentes: por aislamiento viral con observación del efecto inducido por el virus vivo propagado en un huésped biológico; por visualización de la partícula viral total o parcial; por detección de sus componentes macromoleculares (antígenos virales o ácido nucleico viral).
- b) Detección de la respuesta inmune del huésped mediante el estudio de anticuerpos antivirales (serología).

TOMA DE MUESTRA. “El buen diagnóstico empieza con una buena muestra”. La definición del momento y forma de recolección, transporte y conservación de la muestra son esenciales para el resultado del estudio. La recolección de la muestra debe considerar inicialmente dos factores: el sitio u órgano lesionado y el virus presuntamente responsable. Las muestras más comúnmente usadas son las secreciones respiratorias, deposiciones, sangre y líquido céfaloraquídeo. Para aislamiento viral se precisa mantener la partícula viral viva, por lo que la forma de obtención y manejo de la muestra es fundamental; frecuentemente se utilizan medios de transporte especiales y su traslado al laboratorio debe hacerse en frío (en hielo). Otras técnicas de diagnóstico viral no necesitan el virus “vivo”, pues se basan en la detección del virión o de sus componentes estructurales, cuya mayor estabilidad facilita la realización del estudio. La forma de conservación de la muestra depende además de la estructura del virus y del uso posterior de la misma. En general, los virus deben mantenerse en frío, a temperaturas entre +4 y -180° C; los virus con manto son más lábiles (VRS, influenza, CMV, hepatitis B y C, etc.) y los procesos de congelación y descongelación disminuyen su viabilidad. Por esta razón, en general dependiendo del virus a estudiar, las muestras se pueden mantener unos pocos días a 4° C y luego, si no siguen procesando, deben congelarse a temperaturas entre -20° y -180° C. Los virus desnudos, como enterovirus, rotavirus, adenovirus, etc. se mantienen viables por varios años congelados a -20° C.

El estudio sérico clásico requiere de dos muestras de sangre, una en la etapa aguda de la infección y otra en la convalecencia, generalmente con 2 a 4 semanas de intervalo entre ellas, para demostrar una seroconversión. Si se desea diagnosticar infección reciente (IgM) o antigua (IgG) se puede determinar el nivel del tipo de anticuerpos correspondiente en sólo una muestra de sangre.

DETECCIÓN DEL AGENTE. Se puede realizar de distintas maneras:

Aislamiento viral. Los primeros huéspedes biológicos empleados los **animales** de experimentación. Actualmente su uso ha limitado notablemente debido a las dificultades inherentes al trabajo con animales y al desarrollo de cultivos celulares.. En ciertos laboratorios de diagnóstico virológico y de producción de productos biológicos, se utilizan lauchas en la propagación del virus rábico para la producción de la vacuna, en el diagnóstico de arbovirus y en estudios epidemiológicos de enterovirus; se pueden emplear una variedad de animales para la preparación específica de anticuerpos antiviral (policlonales o monoclonales) con distintos objetivos. Todavía se propaga virus influenza en huevo embrionado, más para obtención del antígeno viral utilizado en la producción de vacuna que para diagnóstico

Los **cultivos celulares** constituyen, desde 1950, el sistema más empleado para el aislamiento y propagación de la mayoría de los virus. Los cultivos de células *in vitro* consisten en un sistema formado por células provenientes de un órgano o un tejido, normal o tumoral, mantenidas en medios de cultivo de composición química definida y en condiciones de temperatura, pH, aireación y humedad controladas. La definición operacional de los cultivos celulares en tres tipos - cultivo primario, cepa celular y línea celular - depende del origen y tiempo de sobrevivencia de las células *in vitro*. Los cultivos primarios se preparan a partir de tejidos normales, jóvenes, que tienen un cariotipo normal y una capacidad de crecimiento *in vitro* limitada a 2 ó 3 subcultivos (Ej: pulmón fetal humano, prepucio de recién nacido, amnios humano, etc.) y son más difíciles de obtener. En el otro extremo, las líneas celulares provenientes de tejidos tumorales, con cariotipos heteroploides, pueden subcultivarse en forma continua y son fáciles de mantener *in vitro* (Ej: HEp-2, Hela, Vero, RK, etc.). Las cepas celulares tienen una constitución cromosómica normal y permiten 20 a 50 subcultivos (MCR-5).

No existe un cultivo celular susceptible a todos los virus, de modo que un laboratorio de diagnóstico viral debe disponer de distintos cultivos celulares. Por ejemplo, el virus herpes simplex crece bien *in vitro* en cultivos primarios, cepas y líneas celulares (MRC-5, RK, HEp-2, HeLa, Vero u otras); en cambio, otro virus de la misma familia, el citomegalovirus (CMV) sólo crece en cultivos primarios de pulmón fetal humano o bien en algunas cepas celulares derivadas del mismo órgano y especie (MRC-5). Por otro lado, una línea celular como HEp-2 puede ser bastante sensible a adenovirus, VRS, parainfluenza, herpes simples, poliovirus y otros, pero no permitir el crecimiento de CMV, rotavirus, influenza, etc; además, es posible que los pasajes sucesivos de una línea la hagan disminuir su sensibilidad a algunos virus, como sucede con Hep-2 en relación a VRS.

Algunos virus inducen un ECP muy característico en ciertos cultivos celulares, facilitando su diagnóstico, como HSV, VRS, adenovirus. Considerando el cuadro clínico, el tipo de muestra y de cultivo celular usado, las características y tiempo de aparición del ECP se puede presumir una etiología viral con cierta seguridad. Sin embargo, se deben usar técnicas diagnósticas complementarias para identificar o precisar el agente viral. Por otra parte, hay virus que requieren cultivos celulares muy especiales (HIV, EBV, calicivirus, rotavirus, etc.) y otros para los cuales aún no se dispone de un cultivo celular que permita su propagación (papilomavirus, hepatitis B y C, etc), en los que se debe recurrir a otro tipo de técnica diagnóstica.

Detección de la partícula viral completa. La aplicación de técnicas de microscopía electrónica ha permitido observar la morfología de la mayoría de los virus que se conocen. En ciertos casos dicha morfología es característica (adenovirus, rotavirus, coronavirus) y permite la identificación de la partícula viral, aunque habitualmente la observación de su morfología sólo sugiere una familia o grupo viral. El uso de microscopía con tinción negativa mejora la visualización de las partículas virales presentes en una muestra. El empleo de la microscopía electrónica tiene algunas limitaciones, como la necesidad de una alta concentración de partículas virales en la muestra, la disponibilidad de un microscopio electrónico y de un operador experimentado. Se puede mejorar este método realizando inmunomicroscopía electrónica, en la cual se agregan anticuerpos específicos a la muestra que aglutinan y concentran los virus, haciendo más fácil de visualizar y permitiendo identificar la partícula viral, pues la reacción antígeno-anticuerpo es específica.

Detección de componentes macromoleculares.

1.- Detección de antígenos o proteínas virales (inmunoanálisis). La metodología se basa en la especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo, que se evidencia de diferentes formas. Se requiere de una clara definición del componente antigénico a investigar (interno o externo, estructural o temporal, completo o parcial, etc.), así como del tipo de anticuerpo a usar (monoclonal, policlonal, biosintético, etc.). Las técnicas de inmunodiagnóstico permiten detectar la presencia de antígenos y/o de anticuerpos y pueden desarrollarse como métodos directos o indirectos. En el método directo el anticuerpo específico tiene acoplado un marcador y sólo se puede usar para detectar antígeno. En el método indirecto el anticuerpo específico (anticuerpo primario) no está marcado y la formación del complejo antígeno-anticuerpo se evidencia mediante un anticuerpo marcado anti-especie del anticuerpo primario (anticuerpo secundario conjugado); este método puede emplearse para detectar tanto antígeno como anticuerpo (Figura 1). Se han desarrollado múltiples sistemas para optimizar el diagnóstico basado en la reacción antígeno anticuerpo, que implican la formación de “sandwiches” con los diferentes reactantes. Unos métodos, denominados de competencia, miden la variación del resultado haciendo competir el anticuerpo en estudio con un anticuerpo conocido. Con frecuencia se adsorbe un anticuerpo específico a una fase sólida inerte, para “capturar” el virus o antígeno presente en la muestra y

mejorar la sensibilidad o especificidad de la técnica: métodos de captura. Una forma simple de inmunodiagnóstico la constituye la aglutinación, fenómeno visible a simple vista similar a lo observado al determinar grupos sanguíneos; esta reacción se ha perfeccionado con la adsorción de antígenos o anticuerpos a fases sólidas (esferas de látex, placas, hemáties pretratadas, etc.). Ej. rotavirus, rubeola.

El sistema usado para marcar los anticuerpos define la denominación de diferentes técnicas. En el caso de la inmunofluorescencia (IF), el anticuerpo está conjugado con una molécula que emite fluorescencia bajo la estimulación con luz de una longitud de onda determinada (ej.: isotiocianato de fluoresceína, rodamina, ficoeritrina y otros). Tanto en la técnica de ensayo inmunoenzimático (ELISA) (Figura 2) como en las inmunocitoquímicas, el anticuerpo va acoplado a una enzima (fosfatasa alcalina o peroxidasa) que reacciona con un sustrato cromógeno, dando origen a un producto coloreado, que se detecta a simple vista o bien al microscopio óptico (ELISA). El cambio de color se puede cuantificar midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro. En la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) el anticuerpo está marcado con un elemento radioactivo y el complejo antígeno-anticuerpo se detecta en un contador gama.

Estas técnicas han tenido habitualmente el carácter de cualitativas, pues determinan la presencia de una reacción específica. Sin embargo se ha avanzado con el desarrollado de sistemas para cuantificar la cantidad de antígeno o anticuerpo, mediante uso de diluciones sucesivas de la muestra (IHA para influenza o rubeola), medición de la intensidad de la reacción (ej: ELISA cuantitativo) o el recuento de células positivas (ej: antigenemia para CMV).

Actualmente se han desarrollado científicamente y comercialmente muchas técnicas con variados sistemas de detección y de marcación, para diagnosticar o tipificar muchos agentes; debe analizarse cuidadosamente la sensibilidad, especificidad, rapidez, costo, aplicabilidad, etc. de ellas antes de decidir su uso.

2. - **Detección de ácido nucleico viral.** Puede realizarse con los siguientes métodos:

- **Electroforesis.** Se pueden detectar algunos virus con genoma segmentado por electroforesis del ácido nucleico, observando su patrón de migración en geles de agarosa o poliacrilamida. El diagnóstico de rotavirus representa un buen ejemplo del empleo de esta técnica, dado que su genoma es RNA segmentado, lo que ha permitido desarrollar un método simple y rápido para su detección en deposiciones, que se usa rutinariamente en diversos laboratorios. En los virus que no tienen un genoma fragmentado (adenovirus, herpes simplex, citomegalovirus, VRS, etc.) pueden usarse enzimas de restricción (endonucleasas) que cortan el genoma en secuencias específicas, originando varios segmentos que conforman un patrón de movilidad electroforética característico que permite identificar al virus y sus variantes genéticas. Esta técnica se usa extensamente en investigación para estudiar variación antigénica (RFLP: restriction fragment length polymorphism)

- **Hibridación de ácidos nucleicos.** Esta técnica se basa en la capacidad de las moléculas de ácido nucleico de una hebra de reconocer, por apareamiento de bases, a hebras de ácido nucleico que poseen secuencias nucleotídicas complementarias. La detección del híbrido puede realizarse usando sondas de ácidos nucleicos marcadas. Hay sondas radioactivas en que se visualiza la formación del híbrido mediante una autorradiografía; otras sondas son biotiniladas, detectándose la formación del híbrido mediante una reacción inmunológica. Otras veces se detectan los híbridos por la diferente velocidad de migración en geles de electroforesis (heteroduplex). Algunos ensayos se pueden realizar por la técnica de hibridación en filtro, que emplea como soporte un filtro de nitrocelulosa sobre el cual se realiza la reacción. La hibridación *in situ* se realiza en un corte de tejido o sobre una monocapa de cultivo celular. Esta última técnica constituye en la actualidad un buen método de diagnóstico para el virus papiloma.

- **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).** Esta técnica permite la amplificación *in vitro* de secuencias específicas de DNA existentes en una muestra en número de decenas a niveles de millones de copias en pocas horas, permitiendo posteriormente de detectar dichas secuencias mediante hibridación de ácidos nucleicos o electroforesis. La primera fase de la reacción consiste en extraer y purificar el ácido nucleico de la muestra; luego se agregan partidores o secuencias de oligonucleótidos que hibridan específicamente con regiones homólogas del DNA viral, los nucleótidos y otros reactivos; al final se pone una DNA polimerasa, llamada Taq polimerasa, aislada desde la bacteria *Thermophilus aquaticus*. La reacción se realiza en ciclos de tres diferentes temperaturas que permiten sucesivamente la separación de las hebras de DNA, el apareamiento de los partidores y la síntesis de las nuevas hebras por acción de la polimerasa. Se genera así un número creciente de copias que entran al ciclo siguiente, de modo que al cabo de 30 ciclos se generan más de un millón de copias de la secuencia de nucleótidos original. De esta manera, una región del DNA viral puede ser amplificada cientos o miles de veces, dependiendo del número de ciclos utilizado. En una tercera etapa, el fragmento amplificado se visualiza mediante electroforesis y tinción con bromuro de etidio o nitrato de plata, o bien mediante hibridación con una sonda específica para el producto amplificado. Esta técnica, diseñada para hebras de DNA, puede aplicarse a virus RNA (RT-PCR). Primero se hace una transcripción del RNA viral extraído de la muestra a DNA mediante una transcriptasa reversa y luego se usa esta hebra resultante (cDNA) como molde para la reacción de PCR. Por otro lado, se han desarrollado sistemas de PCR cuantitativo que permiten medir la “carga viral”, de gran utilidad en el seguimiento de afecciones como SIDA, CMV, hepatitis C, etc. En los nuevos sistemas de “PCR en tiempo real” el DNA producto de la PCR se puede ir midiendo a medida que se acumula, acortándose el tiempo de reacción y haciéndose al sistema más finamente cuantitativo. La técnica de PCR ha experimentado un desarrollo y aplicabilidad muy acelerados, gracias a su alta sensibilidad y a la condición de no requerir agente vivo. Sin embargo, su implementación requiere de infraestructura física y personal muy especializados. Actualmente se han desarrollado PCR para diagnosticar y caracterizar la mayor parte de los virus conocidos y se considera una gran herramienta para estudio molecular de agentes vivos. (Figura 3).

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTIVIRALES.

Las infecciones virales recientes o pasadas del individuo se pueden estudiar mediante la determinación de anticuerpos de tipo IgM o IgG respectivamente. La susceptibilidad frente a determinadas infecciones también puede medirse determinando niveles de anticuerpos séricos. Para documentar una “seroconversión” se requiere tomar dos muestras de sangre: la primera en la etapa aguda de la enfermedad y la segunda, por lo menos 15 días después. Un alza de 4 o más veces del título inicial de anticuerpos o una variación de negativo a positivo señalan infección reciente por el agente en estudio. Semejante criterio de significancia puede usarse también para comparar los niveles de IgG de la madre en relación al recién nacido. La clara selección del antígeno contra el cual se dirigen los anticuerpos – superficiales, profundos, estructurales, temporales, enzimas, epitopes específicos o comunes de grupos, etc. - permitirá avanzar en el diagnóstico y control evolutivo de algunas virosis, como SIDA, hepatitis, mononucleosis infecciosa, etc.

Las técnicas serológicas han experimentado un gran avance en los últimos años, y para su mejor comprensión se hará una descripción considerando primero las clásicas y luego las más recientes. El uso y la vigencia de las mismas depende de los objetivos del estudio, de los modelos virales involucrados y de las disponibilidades técnicas y comerciales de ellas.

Técnicas serológicas clásicas. El objetivo de estas técnicas es detectar la respuesta inmune humoral del huésped (anticuerpos). Su fundamento es la formación de un complejo antígeno anticuerpo - virus y suero del paciente - que puede demostrarse por diversos procedimientos.

1. **Reacción de neutralización.** Se basa en la pérdida de la capacidad infectiva de un virus al unirse al anticuerpo específico, formando un complejo antígeno-anticuerpo. Estos complejos no infectivos se pueden detectar inoculando la mezcla en un huésped vivo, animales de experimentación o en cultivos celulares, donde no produce efecto pues la capacidad infectiva del virus ha sido neutralizada por los anticuerpos del paciente. Por el contrario, en ausencia de anticuerpos específicos no se forma el complejo, el virus mantiene su capacidad infectiva y es capaz de producir un efecto biológico característico en el huésped. Esta técnica también permite definir los “serotipos virales”, pues la reacción de neutralización refleja el grado de inmunidad del huésped frente al agente específico (Ej. 3 serotipos de virus polio, 51 serotipos de adenovirus, 1 serotipo de rubéola, etc). Por esto, generalmente se considera como técnica de referencia para métodos que miden anticuerpos. Sin embargo, es una técnica sofisticada, pues requiere de un laboratorio con capacidad de mantener huéspedes vivos y la reacción demora varios días, el tiempo que tarda el virus en producir un efecto demostrable.

2. **Reacción de inhibición de la hemaglutinación.** Se basa en la pérdida de la capacidad hemaglutinante de un virus al formarse el complejo antígeno-anticuerpo. Se utiliza en el diagnóstico de virus con capacidad de aglutinar glóbulos rojos (influenza, rubéola, sarampión, etc.), que al unirse a los anticuerpos específicos pierden esta propiedad. Esto se demuestra haciendo reaccionar la mezcla de antígeno con anticuerpos (suero del paciente) con glóbulos rojos, los que no se unen y sedimentan formando un botón o punto; en ausencia de anticuerpos específicos se expresa la propiedad hemaglutinante del virus, que se visualiza por la formación de una malla de aglutinación en el tubo o pocillo en que se realiza la reacción. Esta técnica se hace en microplacas de plástico en forma manual y demora 3 a 5 horas en dar resultados. Actualmente se usa principalmente en diagnóstico y caracterización de virus influenza. Los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación tienen buena correlación con los neutralizantes en reflejar nivel de inmunidad, y su medición es más sencilla (ej. sarampión, rubéola)

3. **Reacción de fijación del complemento.** En esta técnica el complejo virus-anticuerpo específico debe competir por captar complemento con otro sistema, formado por glóbulos rojos de cordero sensibilizados con hemolisina (anticuerpo anti-glóbulos rojos de cordero). Si en la primera reacción se forma el complejo antígeno-anticuerpo, se consume o “fija” el complemento que hay en el medio y al agregar los glóbulos rojos sensibilizados no se produce la hemólisis porque no hay complemento libre y los eritrocitos sedimentan al fondo del tubo o pocillo formando un botón. En cambio, si no se forma el primer complejo, el complemento queda libre, se une a los glóbulos rojos sensibilizados y los lisa. Esta técnica es relativamente compleja, pues usa muchos reactivos, los que deben estar debidamente estandarizados. Su sensibilidad y especificidad no son muy altas y han sido superadas por otras técnicas. Los anticuerpos fijadores del complemento duran sólo algunos años después de la infección, de modo que son indicadores de un proceso reciente.

Otras técnicas serológicas. Muchas de las mismas técnicas descritas para detección de antígenos se pueden usar para determinar anticuerpos: aglutinación, inmunodifusión radial, ELISA, IF, RIA, etc. Debe destacarse que algunas pueden medir IgG o IgM en forma diferencial y es una de las formas de hacer un diagnóstico rápido de una infección reciente. En efecto, la respuesta inmune primaria se caracteriza por un alza de IgM, seguida de un aumento de IgG, a diferencia de la secundaria que es casi exclusivamente por IgG. Luego, la demostración de IgM específica contra un virus sugiere una infección reciente, hecho que debe valorarse cuidadosamente por la existencia frecuente de falsos positivos.

1.- **Western blot.** Este método permite evidenciar la reactividad de un suero frente a antígenos virales que han sido inmovilizadas en una matriz de nitrocelulosa. Para ello una vez purificadas las partículas virales, se separan las proteínas de acuerdo a su peso molecular mediante electroforesis en un gel de acrilamida y las bandas se transfieren a un papel de nitrocelulosa que sirve como soporte de la reacción. Las muestras de sueros a ensayar se incuban sobre el papel y los anticuerpos específicos se unirán a las proteínas virales ancladas. Como en otros tipos de técnicas serológicas indirectas, se agrega posteriormente un anticuerpo antianticuerpo humano conjugado con una enzima y luego un sustrato cromógeno que reacciona con la enzima. La aparición de bandas coloreadas en el papel indica la presencia de complejos de anticuerpos unidos a proteínas virales específicas.

Esta técnica se usa, por ejemplo, para la detección de anticuerpos anti-HIV y anti HTLV-I; actualmente se dispone comercialmente de *kit* diagnósticos que se emplean para la confirmación de resultados positivos obtenidos por ELISA.

2.- **Radioinmunoprecipitación (RIPA).** Esta técnica permite detectar la unión de anticuerpos específicos presentes en el suero del paciente dirigidos contra proteínas virales que contienen un aminoácido marcado radioactivamente (^{35}S -cisteína o ^{35}S -metionina). El complejo antígeno-anticuerpo formado precipita por la adición de proteína A seferosa que se une a la fracción constante de las inmunoglobulinas. Mediante el uso de calor y agentes denaturantes se rompe el complejo, se separan los componentes en una electroforesis y las bandas de los antígenos, precipitados por los anticuerpos específicos, se revelan en una placa radiográfica.

CUESTIONARIO

1. Describa dos situaciones en que el diagnóstico clínico sea suficiente y cuatro en que se requiera diagnóstico de laboratorio para confirmar una etiología viral
2. Señale tres factores importantes de considerar en la toma de la muestra para un aislamiento viral y para una determinación de anticuerpos séricos
3. Mencione algunos usos actuales de animales de experimentación en virología.
4. ¿Crecen todos los virus en los mismos cultivos celulares?
5. Mencione 3 diferencias entre un cultivo primario y una línea celular.
6. ¿Cómo se puede determinar la presencia de un virus en un cultivo celular? ¿Es siempre necesario confirmar el agente sospechado con otra prueba?
7. ¿Qué es más importante: detectar virus vivos o componentes virales?
8. Mencione ventajas y desventajas del diagnóstico por microscopía electrónica
9. Haga un esquema simple de una técnica de inmunodiagnóstico directa.
10. Haga un esquema simple de una técnica de inmunodiagnóstico indirecta.
11. Esquematice una técnica de captura para IgM contra rubéola
12. Haga un esquema de una técnica de ELISA por competencia para VIH
13. Explique los fundamentos de la técnica de hibridación de ácidos nucleicos.
14. Explique la importancia del fraccionamiento natural o mediante enzimas de los genomas virales.
15. Señale las características de la técnica de PCR que la han hecho recomendable para detección de muchos virus.
16. Fundamente la necesidad de realizar técnicas de neutralización
17. ¿Qué otras técnicas pueden utilizarse en el diagnóstico serológico? Mencione ejemplos de uso frecuente.
18. ¿Cómo demuestra Ud. una infección viral reciente?
19. ¿Cómo mide la resistencia y la susceptibilidad a una infección viral?

DISPONIBILIDAD DE DIAGNOSTICO VIRAL 2004.

TIPO DE VIRUS	SUERO		CULTIVO		INMUNODIAGNOST		SONDA-PCR	Otro
	Clásico	(*)		(*)	IF	ELISA	(*)	
RESPIRATORIOS								
- Rhino	+	+			-			++
- VRS	+	+++			++++	+++		++
- Adenovirus	+	++++			++	++		+
- Influenza	+++	++++			+++	+++		++
- Parainfluenza	+	++++			+++	+++		
ENTERICOS								
- Rota	-	+			-	++++		++
- Norwalk	+	0			-	++		++
- Astro	-	++			-	++		++
- Polio	++	++++			-	-		++
- ECHO-Coxsackie	+	++			-	-		++
EXANTEMATICOS								
- Sarampión	+	++			++	++		
- Rubeola	+++	+			+	++++		
- Parvo B 19	-	-			-	++		++
- Papiloma	-	0			-	-	++	++
GRUPO HERPES								
Herpes Simplex	+	++++			++?	+++?		++
CMV	+	++++			+	+++		+
VZV	-	+			++	++		++
EBV	-	-			+++	+++		++
HHV6	-	-			+	+		++
HEPATITIS								
A	-	-				++++		
B	-	0				++++		+++
C	-	0				+++		++
D	-	0				+++		
E	-	0				+++		
HIV	++	-				++++		+++

Explicación de las claves:

++++ uso de elección; +++ uso aceptable; ++ uso restringido, en laboratorios especiales; + posible y restringido; - no se hace; 0 : no se ha logrado
 (*) requiere laboratorio complejo; ? utilidad discutible

FIGURA 1. Técnicas directas e indirectas de inmunodiagnóstico, que permiten detectar antígenos y anticuerpos respectivamente. La indirectas usan un anticuerpo anti-anticuerpo (especie) conjugado con un marcador. Se implementan en sistemas de: 1) Células 2) Placa inerte de “fase sólida” 3) Placa en sistema “de captura” 4) Esfera inerte o biológica, con captura.

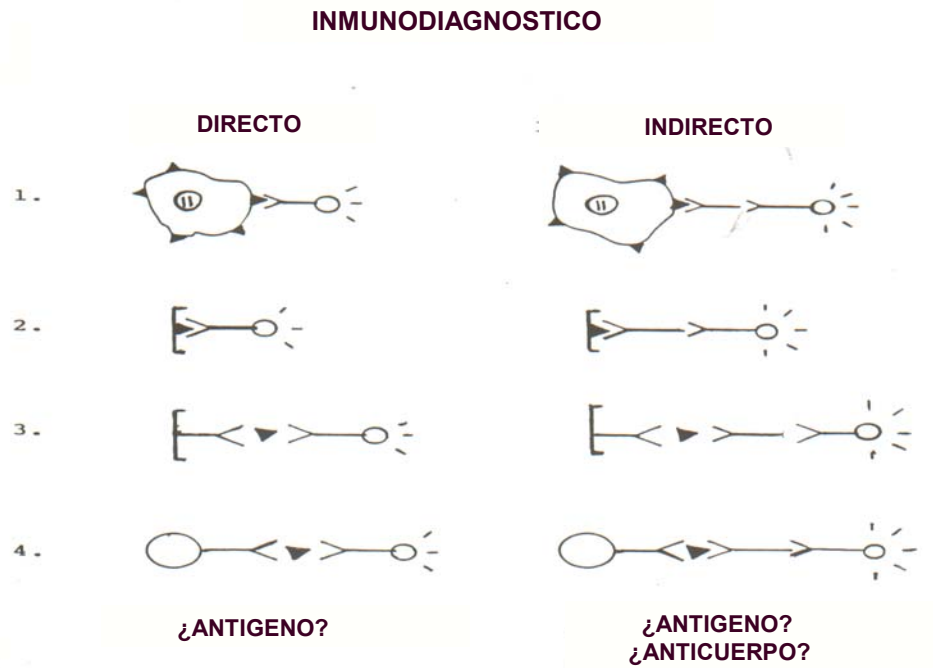


FIGURA 2. Técnica de ensayo inmunoenzimático (ELISA) indirecta para detección de VRS, mediante anticuerpos monoclonales

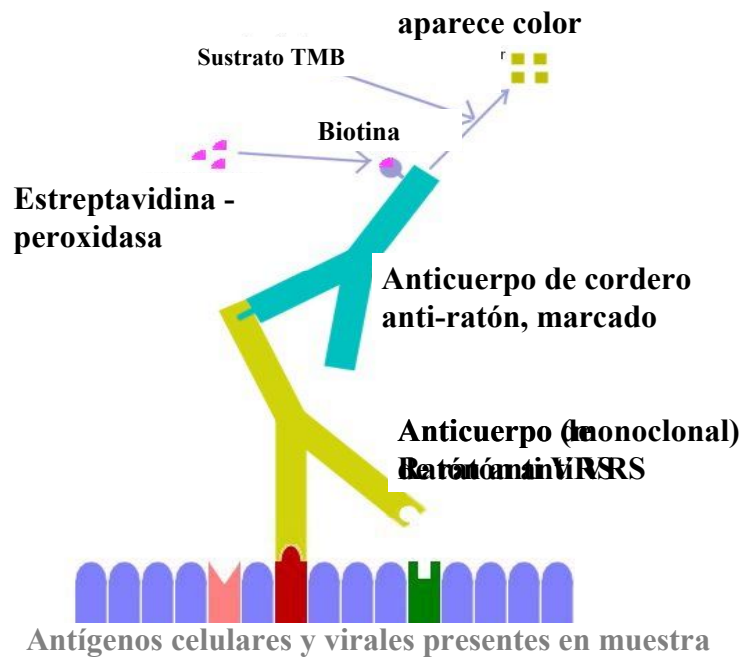


FIGURA 3. Método de reacción de polimerasa en cadena (PCR), en que se muestran las tres etapas: separación de las hebras de ADN (denaturation), apareamiento de los partidores (annealing) y síntesis de las nuevas hebras (extensión).

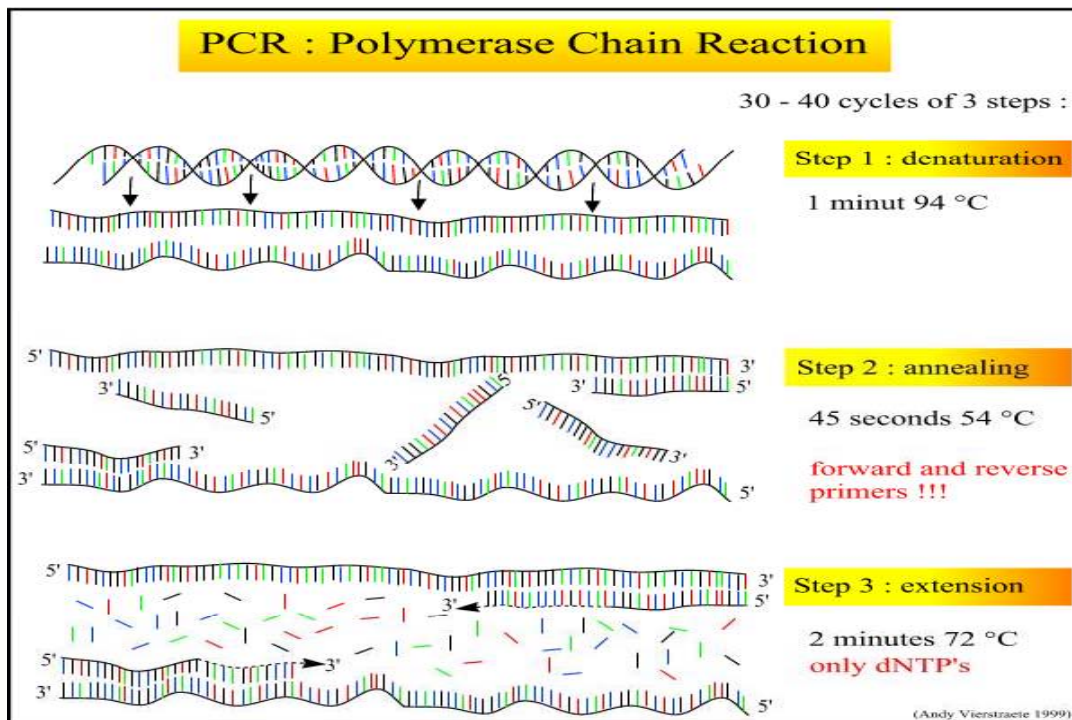
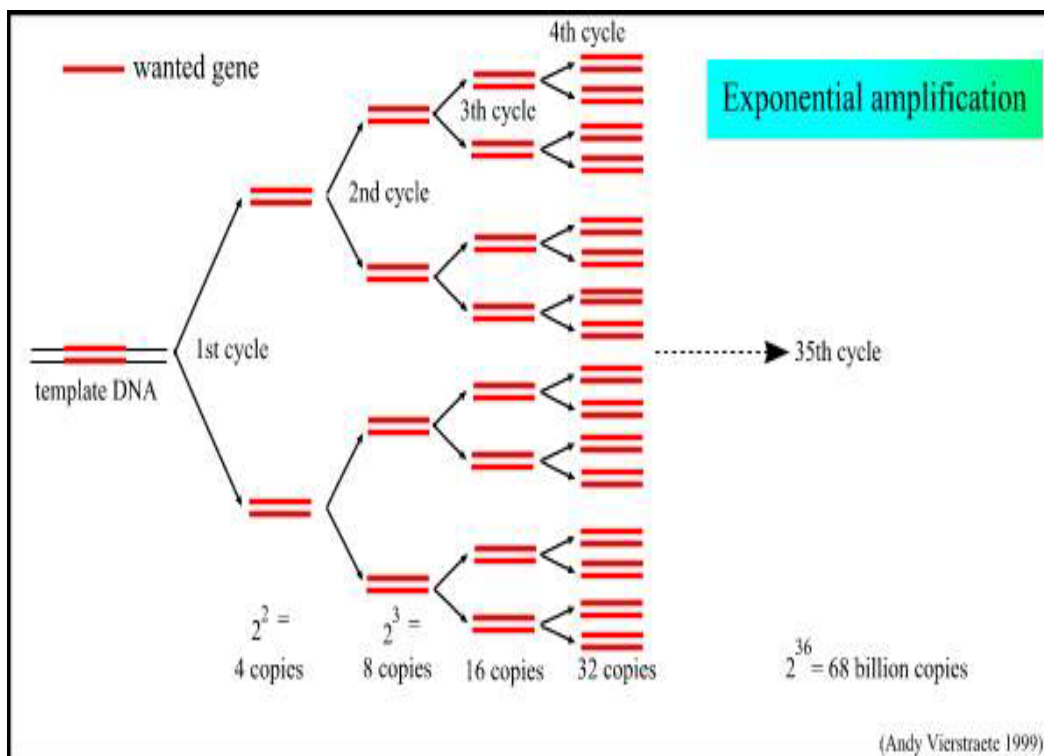


FIGURA 4. Método de reacción de polimerasa en cadena (PCR), en que se muestra progresión de la síntesis de nuevas hebras



BIBLIOGRAFÍA

1. American Association for Microbiology. Laboratory Diagnosis of Viral Infections. Cumitech 15 A. ASM Press.
2. Schmidt N. Emmons R.W. Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections, 6^a ed. Washington American Public Health Association Inc, 1989.
3. Mc Intosh. Diagnostic virology. En: Fields BN *et al.* Fundamental Virology. New York: Raven Press, 1996: 401-430.
4. Arens M. Methods for subtyping and molecular comparison of human viral genomes. Clin Microbiol Rev 1999;12: 612-626
5. Collier L, Oxford J. Human Virology. 2nd ed. Oxford University Press, 2000:243-250.

INFECCIONES VIRALES DEL APARATO RESPIRATORIO

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) constituyen la primera causa de morbimortalidad infantil en países en vías de desarrollo y son un problema prioritario de salud pública a nivel mundial. Los virus son responsables de la mayoría de estas infecciones y comprometen tanto el tracto respiratorio superior (por encima de la carina) como el inferior, en frecuencias que van desde el 10 al 90% dependiendo de la estación, localización geográfica, cuadro clínico considerado, etc. Existen muchos virus con genoma de ARN o ADN capaces de infectar al aparato respiratorio, entre los que se describen los “virus respiratorios”, que lo afectan primariamente (rhinovirus, adenovirus, influenza, etc) y otros, que en el curso de una infección pueden comprometer el aparato respiratorio y órganos adyacentes, como ojos y oídos (sarampión, varicela, enterovirus, CMV, etc.).

El espectro clínico de las IRA causadas por virus varía desde casos asintomáticos a infecciones graves, incluso fatales. Las infecciones y reinfecciones subclínicas por estos agentes son frecuentes y favorecen la difusión y mantención de estas virosis en la comunidad. La mayoría de los virus tiende a producir IRA predominantemente altas (rhinovirus, coronavirus, influenza, etc.), pero hay otros que pueden provocar además IRA bajas de gravedad variable (adenovirus, virus respiratorio sincicial, virus influenza y parainfluenza), dependiendo de factores como edad, prematuridad, estado inmunológico y nutritivo, presencia de enfermedades previas, tabaquismo, cepa viral, condiciones climáticas, etc. En general, cualquiera de ellos puede comprometer distintos niveles del aparato respiratorio, pero existe cierta selectividad de asociación entre algunos virus y ciertos síndromes clínicos. Por ejemplo, el síndrome bronquial obstructivo se relaciona con mayor frecuencia a virus respiratorio sincicial (VRS), la laringitis a virus parainfluenza, la “gripe epidémica” a virus influenza, el resfrío común a rhinovirus, etc.

Desde el punto de vista del huésped, la frecuencia de las IRAs es mayor en los niños, los que constituyen los principales agentes difusores de los virus respiratorios. La mayor gravedad se observa también en este grupo etario, aunque los ancianos y los inmunocomprometidos se han constituido igualmente en poblaciones de riesgo. En efecto, en menores de 2 años, las IRAs alcanzan la mayor morbimortalidad y particularmente en menores de un año, en quienes los más temibles son el VRS y los adenovirus (Ad). En los adultos, especialmente en ancianos o pacientes con patología crónica subyacente, el virus influenza juega un papel fundamental, seguido tal vez por el VRS.

A continuación se revisan las características más relevantes de los virus que afectan predominantemente el aparato respiratorio

RHINOVIRUS

Los rhinovirus (del gr. rino, nariz) constituyen un género de la familia *Picornaviridae*. Son virus RNA pequeños, icosaédricos, sin manto, de 18-30 nm de diámetro. Su genoma es una hebra de ARN de polaridad positiva de 7-8 Kb, con una cola de poli A en el extremo 3'. El virus se adsorbe a dos tipos de receptores (ICAM-1 o una lipoproteína) y penetra al citoplasma de las células de la mucosa respiratoria; su ARN actúa directamente como mensajero y genera una molécula proteica grande que es dividida en dos intermediarias (P1-P2), que posteriormente forman las proteínas estructurales (VP1-VP4) y no estructurales; luego del ensamblaje los nuevos virus salen por lisis celular. Mediante técnicas de neutralización se han descrito más de 120 serotipos de rhinovirus, mientras que con técnicas de hibridación de ARN se reconocen menos de 100. Los rhinovirus, a diferencia de otros miembros de la familia

Picornaviridae, son lábiles en medio ácido (estómago) y su temperatura de crecimiento óptima es 33°C. Esta última condición representa, talvez, una adaptación evolutiva al ambiente relativamente más frío de la mucosa nasal.

Epidemiología, patogenia y clínica. De distribución mundial, los rinovirus son universalmente los principales agentes causantes del resfrío común y se presentan durante todo el año. En los países de clima templado tienden a aumentar en primavera y otoño. Un individuo puede experimentar 2 a 3 episodios a lo largo del año, debido a que circulan muchos serotipos, con muy poca o nada de protección cruzada. Los menores de 5 años son los más susceptibles y generalmente constituyen la fuente primaria de infección a nivel familiar. La infección se disemina de persona a persona por dos mecanismos: contacto con manos u objetos contaminados o aerosoles. Tiene un período de incubación de 1 a 4 días, correspondiente a la replicación viral en la mucosa del tracto respiratorio superior, que es seguido de inflamación, edema y exudación copiosa de la mucosa respiratoria. Esta intensa multiplicación en la mucosa nasal, con excreción viral, explica la alta contagiosidad del resfrío. Los síntomas del resfrío son más dependientes de la respuesta inflamatoria del huésped que de la acción directa del virus.

En general, la infección es autolimitada, pero en pacientes asmáticos puede desencadenar crisis obstructivas. También se ha asociado a otitis media en pediatría. La prolongación del resfrío común por más de una semana hace sospechar sobreinfección bacteriana o presencia de alergia.

Diagnóstico de laboratorio. El diagnóstico se basa habitualmente en los síntomas clínicos y antecedentes epidemiológicos, pues la evolución corta y benigna no justifica hacer estudio de laboratorio. El aislamiento viral en fibroblastos humanos y especialmente en células HeLa constituye el método diagnóstico de referencia. El gran número de serotipos de rinovirus dificulta su diagnóstico específico. Se dispone de RT-PCR, que se usa fundamentalmente con fines de investigación. El hallazgo de rinovirus en pacientes con infección respiratoria baja podría tener significación etiológica.

Profilaxis y tratamiento. Hasta ahora no existen medidas preventivas ni curativas eficaces. La existencia de más de 100 serotipos dificulta tanto la evaluación de la eficacia de algunos antivirales como el desarrollo de una vacuna. Se ha ensayado el uso de interferón, pero los efectos colaterales pueden ser peores que la enfermedad natural. Se han desarrollado nuevos antivirales, pero todavía están en etapa de evaluación clínica

CORONAVIRUS

En la familia *Coronaviridae*, género *Coronavirus*, se han descrito 4 serogrupos. Las cepas que infectan al hombre corresponden a los serogrupos 1 (HCV 229E) y 2 (HCV OC43), pero existen al menos otros 10 capaces de infectar aves y mamíferos. A fines de 2002 emergió en Asia una nueva cepa que produjo neumonías graves en humanos (SARS), con diseminación localizada a Europa y América, que se logró controlar.

Son virus ARN que presentan una envoltura con largas espículas, por la que reciben el nombre de coronavirus. Tienen un diámetro de 60-220 nm y las espículas miden 20 nm de largo. Su genoma es una hebra de ARN de polaridad positiva, de 30 kb con cap en el extremo 5' y poliadenilado en el 3': la ribonucleoproteína interna aparece en forma helicoidal condensada. Al microscopio electrónico se observa la envoltura como una bicapa con un espacio intermedio translúcido. Está formada por tres proteínas: una glicoproteína transmembrana (M) que es la matriz; una segunda proteína (S) que conforma los peplómeros

de superficie y es responsable de inducir anticuerpos neutralizantes, interactuar con el receptor, de la fusión de membrana y tiene actividad hemaglutinante; una tercera proteína (HA), con actividades de hemaglutinina y estearasa, que podría actuar en la liberación del virus, como la neuraminidasa de los virus influenza.

Después de la adsorción viral a la célula huésped, el virus penetra en el citoplasma, probablemente por viropexia. La ARN polimerasa transcribe una hebra completa negativa, de la que se transcriben una hebra positiva (genoma) y varios mRNA subgenómicos, cada uno de los cuales se traduce en sólo una proteína. Tanto la replicación viral como el ensamblaje ocurren en el citoplasma y los virus adquieren su membrana por yemación en el retículo endoplásmico rugoso; los lípidos de la envoltura los adquieren de la célula y el virión es transportado por el Golgi, acumulándose en vesículas de pared lisa; finalmente los virus se liberan por fusión de las vesículas con la membrana plasmática.

Epidemiología, patogenia y clínica. Los coronavirus tienen una distribución mundial. El 2-10% de los resfríos comunes son causados por coronavirus. Los resfríos ocurren durante los meses fríos y comienzos de primavera, apareciendo brotes epidémicos cada 2-4 años. El virus se disemina en forma de aerosoles y por contacto con manos contaminadas. Estudios de seroprevalencia han mostrado que la mayor parte de la población se infecta en algún momento de su vida. Las reinfecciones son frecuentes, a pesar de inducir la formación de anticuerpos neutralizantes.

La replicación viral determina la destrucción de las células que han sido infectadas y afecta fundamentalmente a células del tracto respiratorio superior, como la mucosa nasal y epitelio ciliar de la tráquea. A diferencia de los rinovirus, puede comprometer los alvéolos.

Su período de incubación es de 3 días, después de lo cual aparece inflamación, edema y exudado que permanecen unos 7 días. Estos signos pueden acompañarse de malestar y fiebre baja.

Diagnóstico de laboratorio. No se realiza rutinariamente, pues los coronavirus crecen pobremente en líneas celulares habituales. Se requieren cultivos celulares de tráquea de origen embrionario o mucosa nasal para su aislamiento. Para estudios epidemiológicos se miden anticuerpos con técnicas de inhibición de la hemaglutinación (IHA), ELISA e inmunofluorescencia (IF)

Profilaxis y tratamiento. Hasta ahora no existen medidas rutinarias preventivas ni curativas eficaces y tampoco se dispone de una vacuna adecuada. Sin embargo, las medidas de aislamiento respiratorio implementadas en todo el mundo ante la emergencia del SARS, lograron controlar la pandemia. Se discute la posibilidad de desarrollar una vacuna para esta nueva variante de coronavirus.

VIRUS INFLUENZA

Los virus influenza (Flu), de 100-200 nm de diámetro y de forma esférica, pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae*. Tienen un genoma de ARN monoténico de polaridad negativa de 9 kb - segmentado en 8 (influenza A y B) o 7 fragmentos (influenza C) - que con el complejo nucleoproteico conforma una nucleocápsula helicoidal. Poseen un manto lipídico donde protruyen alrededor de 500 espículas (Figura 1). En esta conformación cobran importancia dos tipos estructuras antigénicas. La primera está dada por el antígeno profundo de la nucleoproteína (NP) y el de la matriz M, que permiten clasificar los virus influenza en 3 géneros, representados por los virus influencias tipos A, B y C. La segunda - importante en la

infectividad y patogenicidad viral - está constituida por los antígenos de superficie del manto, que determinan los diferentes subtipos de virus y corresponden a la hemaglutinina "H" y la neuraminidasa "N". La hemaglutinina es la glicoproteína de superficie más abundante (80%), y su función es reconocer receptores específicos de la mucosa respiratoria, permitiendo la adsorción del virus a la célula huésped (infectividad); en la naturaleza se han descrito muchas variantes (H1 – H 15), de las cuales sólo las H1, 2 y 3 afectan al hombre. La neuraminidasa es una enzima capaz de romper la unión del ácido neuramínico (siálico) a la proteína, facilitando la liberación viral; se han detectado 9 variantes N, de las cuales sólo N1 y N2 afectan a seres humanos

Los diferentes subtipos de virus Flu se han generado por cambios en los antígenos de superficie H y/o N. Las variaciones antigénicas ocurren por recombinaciones genéticas o por mutaciones puntuales en pocos aminoácidos. Estos cambios, tan frecuentes en virus Flu, se facilitan por la fragmentación de su RNA, hecho que permite las recombinaciones genéticas entre virus influenza de diversas especies (humanos, aves marítimas y domésticas, cerdos, equinos, ballenas, focas) durante una doble infección. Estas recombinaciones pueden generar cambios mayores (*shift*) en los antígenos H o N, que modifican el subtipo viral y producen epidemias y pandemias. Hay antecedentes que las cepas recombinantes de Flu A que han causado pandemias han sido producto de infecciones mixtas de cepas aviarias y humanas, que han ocurrido en cerdos, los que han actuado como “laboratorios experimentales naturales” (Fig 2). Cuando sólo ocurren mutaciones, cambios menores en la secuencia de aminoácidos de estos antígenos (*drift*), los brotes epidémicos son menores. Los virus ARN tienden a tener 10.000 veces más mutaciones que los ADN, porque la replicasa viral es una enzima de baja fidelidad y no existe un sistema de reparación de errores. Esto explica, por ejemplo, que pueda haber cambios en los 250 aminoácidos de la HA de influenza A con frecuencia de 2 a 3 aminoácidos por año. Estos cambios puntuales se van acumulando geográfica y temporalmente, disminuyendo la similitud antigénica entre las antiguas y las nuevas cepas circulantes. La inmunidad que inducen los virus Flu es subtipo específica, pues los anticuerpos producidos están dirigidos contra los antígenos de superficie (H y N); sin embargo, existe reactividad cruzada entre cepas de un mismo subtipo.

Epidemiología, patogenicidad y clínica. La infección por virus influenza es de distribución mundial y las epidemias se diseminan por países, continentes y hemisferios. Habitualmente se presentan cada año en estaciones frías, empezando en otoño, y duran aproximadamente 6 a 8 semanas. Desde su aislamiento, en 1933, se han presentado varias pandemias por influenza A: 1918-19 (H1swN1), 1957 (H2N2), 1968 (H3N2) y 1977 (H1N1). En 1997 y 1999 se detectaron en Hong Kong dos brotes por cepas aviarias H5N1 y H9N2, que afortunadamente no se diseminaron: en la actualidad se han informado casos de influenza aviar en Asia, Europa, Canadá y EE.UU. Gran alarma ha causado la detección de perros y gatos infectados. Si bien los virus influenza aviar generalmente no infectan a humanos, se han confirmado más de 100 casos desde 1997, la mayoría de los cuales se han adquirido mediante el contacto directo con aves infectadas o superficies contaminadas. Por la potencial variación del virus que podría determinar la diseminación entre personas, se ha establecido una estrecha vigilancia de casos humanos

En 2001 se han detectado cepas H1N2 en Europa y recientemente en América, que no son particularmente agresivas. La virulencia de Flu A es mayor y su variación antigénica es más frecuente que la observada en los tipos B y C, por lo que estas últimas no producen grandes epidemias.

La infección se disemina vía aérea en aerosoles o por contacto con manos u objetos contaminados. El período de incubación es corto (horas - 4 días). El virus alcanza la mucosa del aparato respiratorio superior, donde logra vencer la acción defensiva de cilios y mucus gracias a que la neuraminidasa (antígeno N) rompe los enlaces de ácido N-acetil-neuroamínico del *mucus*, liberando los viriones. El virus se adsorbe mediante la HA a receptores celulares que contienen ácido siálico, y el virus es incorporado por endocitosis en una vesícula endoplasmática. La acidificación de la vesícula cambia la conformación de la HA e induce la fusión del manto viral con la membrana endocítica, liberando al citoplasma el complejo ARN - nucleoproteína (NP) - polimerasas (PA-PB1-PB2), el cual es transportado al núcleo. Allí se transcriben los 8 mARN que originarán proteínas estructurales, que incluyen una transcriptasa, y no estructurales (NS1,NS2). Los nuevos viriones se ensamblan en la superficie celular y se liberan por yemación. En esta etapa la neuranimidasa juega el papel fundamental de separar el ácido siálico de las glicoproteínas viral y celular, permitiendo la liberación del virus y evitando su aglutinación en la mucosa. En este proceso algunas células mueren por efecto del virus o de la respuesta inmune celular, pero otras pueden tolerar varios ciclos replicativos.

Clínicamente la infección por virus influenza se conoce como gripe, en especial cuando se presenta como un episodio epidémico. Aunque es fundamentalmente una infección localizada en el aparato respiratorio, se acompaña de síntomas generales como fiebre, calofríos, cefalea, mialgias, y ocasionalmente vómitos y diarrea. Los síntomas respiratorios varían de acuerdo al nivel del tracto respiratorio afectado y pueden ir desde estornudos, coriza y tos, hasta signos de neumonías extensas con insuficiencia respiratoria. Estos síntomas son más frecuentes y severos en infecciones por influenza A que en B, y prácticamente no se observan en las por tipo C. Se estima que las infecciones subclínicas son frecuentes y que contribuyen a la difusión del brote.

La infección natural o la vacunación con virus Flu induce una respuesta inmune humoral de tipo IgM, IgA e IgG fundamentalmente contra los antígenos virales de superficie (H y N), que confieren protección transitoria frente a futuras exposiciones con el mismo subtipo viral. Los anticuerpos son específicos para cada cepa, por lo que la protección disminuirá en la medida que las nuevas cepas circulantes representen o acumulen nuevas variaciones antigénicas. La respuesta inmune celular y la formación de interferón son importante en la recuperación de la enfermedad.

Diagnóstico de laboratorio. El diagnóstico de influenza se realiza, tanto con fines clínicos como epidemiológicos, a partir de muestras de secreciones respiratorias. Se pueden usar técnicas rápidas de detección de antígenos virales (inmunofluorescencia, ELISA, etc.), aislamiento viral en huevos embrionados o cultivos celulares (MDCK) y/o RT-PCR. También se puede realizar mediante el estudio de anticuerpos séricos en fase aguda y de convalecencia. Con fines de vigilancia epidemiológica es muy importante recolectar muestras para caracterizar las cepas prevalentes en la comunidad.

Profilaxis y tratamiento. Para la profilaxis se dispone de vacunas inactivadas, para administración vía subcutánea, preparadas con virus completo o con subunidades, que contienen los antígenos de las cepas circulantes en la comunidad. En Rusia se usa una vacuna viva atenuada adaptada al frío, la cual se administra por vía aerosol nasal. La inmunidad no dura más de un año, lo que unido a la variación antigénica, hace necesario revacunar cada año. Con dicho objeto la Organización Mundial de la Salud organizó en 1947 una red internacional de laboratorios para vigilar la emergencia de nuevas cepas virales y hacer recomendaciones a

la industria farmacéutica sobre los antígenos a incluir en las nuevas formulaciones. La vacuna inactivada actual incluye dos cepas de influenza A (H1N1 y H3N2) y una de influenza B.

Actualmente el objetivo de la vacunación se centra en prevenir enfermedades severas y muerte por influenza. Como no se usa habitualmente en preescolares y escolares, que son los principales difusores de la infección, su impacto en la magnitud de la epidemia es limitado. Se recomienda vacunación anual a los individuos más susceptibles de tener infecciones graves, y eventualmente fatales por influenza, como son los mayores de 65 años y los pacientes con enfermedades crónicas (neurológica, cardiorrespiratoria, renal, metabólica, etc.). Igualmente se recomienda vacunar al personal de salud que atiende a grupos de riesgo (hospitales, residencias de ancianos, etc). Dado que la influenza puede tener una evolución severa en la embarazada, se ha recomendado la vacunación en mujeres que vayan a estar en 2º ó 3er trimestre de embarazo durante una epidemia. Aquellos que se vacunan por primera vez deben recibir al menos dos dosis con un intervalo de 4 semanas; para la revacunación basta con una dosis anual. Ante la aparición de nuevos subtipos se debe vacunar con 2 dosis de la nueva cepa y continuar con dosis anuales, mientras se mantenga prevalente. La vacuna inactivada puede producir molestias locales transitorias y su efectividad oscila alrededor del 80%.

Se han desarrollado algunos antivirales de utilidad en el tratamiento y profilaxis de la influenza. La amantadina y rimantadina son drogas que actúan inhibiendo la liberación del virus influenza A de la vacuola endocítica, por impedir el paso de protones por el canal que conforma la proteína M2 en el manto. Administrada precozmente es efectiva, reduciendo los síntomas y el riesgo de una evolución grave en el 70-90% de los casos. También se recomienda su uso en pacientes de riesgo y en vacunados, mientras desarrollan la inmunidad conferida por la vacuna. Sin embargo, tienen efectos secundarios en el SNC y las cepas desarrollan resistencia, por lo que su uso es limitado, y no se recomiendan como profilaxis. De desarrollo más reciente son el oseltamivir (Tamiflu®) y el zanamivir (Relenza®), antivirales que inhiben la neuraminidasa, bloqueando sus sitios receptores de ácido siálico y, por lo tanto, impidiendo la liberación de los nuevos viriones desde las células infectadas. Son activos contra virus A y B y se emplean por vía oral e inhalatoria, respectivamente, en terapéutica y profilaxis con acción superior a la amantadina. También se han utilizado en casos de influenza aviar. Su administración ha dejado en evidencia el desarrollo rápido de resistencia viral.

ADENOVIRUS

Los adenovirus (Ad) pertenecen a la familia *Adenoviridae*, género *Mastadenovirus*. El virión tiene un tamaño de 80 nm y no posee manto. Su genoma de DNA lineal biténico se encuentra cubierto por una nucleocápsula de simetría icosaédrica, formada por 252 capsómeros. La doble cadena de DNA, de 36-38 kpb, presenta secuencias terminales invertidas y una proteína en el extremo 5'. La cápsula está conformada por 240 hexones en las 20 caras del icosaedro (polipéptido II, que contiene el epitopo Ad común alfa), 12 pentones en los vértices (polipéptido III) y por el polipéptido IV, que sobresale de los vértices del icosaedro a modo de antena y que le confiere al virus la propiedad infectiva, permitiendo la adsorción del virus a los receptores celulares (Figura 2).

Desde su descubrimiento en tejido adenoideo por Rowe, en 1953, se reconocen hasta la fecha 51 serotipos diferentes de Ad por reacción de neutralización. La clasificación de estos serotipos en 7 grupos (A-G) se ha basado en la capacidad de los Ad para aglutinar glóbulos rojos de rata o mono *Rhesus*, con su potencial oncogénico sobre hámsteres recién nacidos, en las características de sus polipéptidos estructurales y la homología relativa del DNA entre los diversos serotipos. Además, en los serotipos existen variantes denominados genotipos, las

cuales se definen mediante análisis del ADN genómico con el uso de endonucleasas (enzimas de restricción).

Epidemiología, patogenia y clínica.

Las infecciones por adenovirus se presentan durante todo el año, sin una estacionalidad definida. Estos virus se han aislado de prácticamente todos los órganos del ser humano. Algunos tipos se han asociado claramente con enfermedad, destacando en las infecciones respiratorias los serotipos 1, 2, 3, 5 y 7, productores de faringitis en lactantes y preescolares; los serotipos 3 y 7, responsables de la fiebre faringoconjuntival en escolares; el serotipo 5, en síndromes coqueluchoídeos, y los serotipos 3, 7 y 21 capaces de producir neumonías en lactantes y preescolares. Otros serotipos pueden causar infecciones oculares (serotipo 8), infecciones entéricas (serotipos 40 y 41), cistitis hemorrágicas (serotipos 7,11,21,35), etc. Los serotipos detectados con mayor frecuencia en lactantes chilenos hospitalizados por IRA baja son los 7, 2 y 1.

En Latinoamérica se ha descrito que los adenovirus causan el 5-25% de las IRA bajas virales en menores de dos años que requieren hospitalización. A diferencia de otras IRA, la causada por Ad puede evolucionar con compromiso multisistémico con mayor frecuencia que otros virus respiratorios y producir daño pulmonar crónico, como hiperreactividad bronquial, síndrome de pulmón hiperlúcido, bronquiectasias y fibrosis pulmonar. También puede originar brotes intrahospitalarios, con alta letalidad.

Los adenovirus se diseminan en la comunidad por vía aérea en aerosoles o por contacto con manos contaminadas. El período de incubación es corto (horas a 7 días). El proceso de replicación viral se caracteriza por la supresión de la expresión del genoma celular y por la abundante síntesis de proteínas virales estructurales en forma de cuerpos de inclusión intranuclear, que determina finalmente la lisis de la célula huésped. La proteína III o pentón se asocia a una actividad tóxica que puede ser ejercida a distancia del sitio de la infección. Algunos serotipos son capaces de establecer infecciones persistentes, permaneciendo latentes en ciertos tejidos (adenoideo, renal), con capacidad de reactivación. Por otra parte, en modelos animales se ha comprobado el potencial oncogénico de algunos serotipos de Ad.

La infección por Ad induce la producción de anticuerpos séricos de distinto tipo: neutralizantes, inhibidores de la hemaglutinación y fijadores de complemento. Estos aparecen en la sangre 7 días después de la aparición de los primeros síntomas y alcanzan sus niveles más altos después de 2-3 semanas. Además, es posible detectar anticuerpos del tipo IgA e IgG en las secreciones nasales. Rara vez se produce reinfección por el mismo tipo de Ad, ya que la infección produce inmunidad tipo-específica.

Diagnóstico de laboratorio.

El diagnóstico de adenovirus se realiza habitualmente aislando el virus en cultivos celulares o detectando componentes del virus, como antígenos o ácidos nucleicos. El estudio de la respuesta inmune mediante detección de anticuerpos (ELISA, IF, FC) es de excepción.

Los adenovirus pueden ser aislados de muestras nasofaríngea, ocular, deposición, orina y líquido cefalorraquídeo. La detección rápida de antígenos virales, tanto en muestras de pacientes como en cultivos celulares, se realiza con técnicas de inmunodiagnóstico, como IF o ELISA, utilizando anticuerpos mono o policlonales anti-hexón. La detección del ácido nucleico viral mediante PCR es más sensible que los métodos anteriores. El genotipo se puede obtener digiriendo el ácido nucleico viral con endonucleasas y analizando el patrón de migración de los fragmentos resultantes (RFLP)

Profilaxis y tratamiento.

No se ha demostrado la efectividad de un antiviral específico contra la infección por Ad. En EEUU está aprobada una vacuna a virus vivo, en cápsulas entéricas que evitan el contacto con el epitelio respiratorio, para los serotipos 4 y 7. Se ha usado en población militar, pero no se ha probado en niños ni con otros serotipos. La biología molecular está aprovechando la capacidad de los adenovirus de poder expresar proteínas, sin replicarse ni dar origen a una progenie infectiva, si se suprime o reemplaza por otro gen la región E3 del genoma; constituye una estrategia de uso como vector viral para inducir producción de otras proteínas. La infección por Ad tiene sólo tratamiento sintomático.

VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL

El virus respiratorio sincicial (VRS) pertenece a la familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Paramyxovirinae*, género *Pneumovirus* y su tamaño es de 150 m. Su genoma consiste en una hebra de ARN de polaridad negativa de 15kb. que codifica 10 proteínas. Está rodeado por tres proteínas que conforman una nucleocápsula helicoidal, que contiene una polimerasa ARN dependiente, conjunto que a su vez está cubierto por un manto con espículas (Figura 3). El manto presenta en su superficie externa dos glicoproteínas importantes en la patogenia, denominadas G y F. La proteína G, cumple la función de adsorción del virus a la célula huésped. La F, permite la fusión de la envoltura viral con la membrana celular, así como la fusión de membranas de células infectadas con células no infectadas con el virus. La glicoproteína F es más conservada que la G y ambas inducen la formación de anticuerpos neutralizantes. Existen variaciones antigénicas en varias proteínas, especialmente en la G, y variantes genómicas (lineajes, genotipos), distinguiéndose dos grupos de VRS (A y B), cuya significación clínica y epidemiológica no está bien aclarada. Existen VRS que afectan animales, bovino, ovino, caprino y pavos, pero no se transmiten al hombre.

Epidemiología, patogenia y clínica.

La infección por VRS es de distribución mundial. En los países de clima templado, como Chile, se presenta todos los años en los meses fríos, mientras que en los climas tropicales, se observa preferentemente durante las estaciones lluviosas. El 50-68% de los niños se infecta con VRS durante el primer año de vida y al segundo cumpleaños, virtualmente todos se han contagiado. El virus es generalmente introducido al hogar por un escolar y se contagia el 45% de los menores de 1 año; la tasa de ataque en salas cunas es sobre el 90%. En todo el mundo las hospitalizaciones por IRA baja aumentan durante las epidemias de VRS y se responsabiliza al virus del 75% de las bronquiolitis y del 50% de las neumonías de niños menores de 2 años. En Chile las epidemias duran 3.5 a 6 meses, entre mayo y septiembre, y la detección mensual de VRS oscila entre 14 y 88%. En el Área Norte de Santiago, se hospitaliza un 2% de la población menor de dos años por infección por VRS; 5.6% de ellos requiere ventilación mecánica, correspondiendo a niños con enfermedades previas. La tasa de letalidad en lactantes previamente sanos hospitalizados en el Hospital Roberto del Río es 0.1%.

El hombre es el único reservorio de VRS. La transmisión es vía aérea, a través de aerosol o de secreciones depositadas en el ambiente y especialmente en las manos, pues el virus puede sobrevivir algunas horas en el ambiente, especialmente en secreciones con contenido proteico. El período de incubación es de horas a 5 días y la excreción viral en lactantes hospitalizados dura 1 a 21 días (promedio 6.7 días). El virus se replica en el epitelio de la nasofaringe y se disemina al tracto respiratorio inferior en 1 a 3 días. El VRS induce la formación de sincicios, donde la fusión de células finalmente determina la muerte celular. Se produce necrosis y descamación del epitelio de las vías aéreas pequeñas, destrucción de cilios, edema y aumento de la producción de mucus. Hay obstrucción al flujo aéreo, que

puede producir zonas de hiperinsuflación, atelectasias y consolidación. La reparación epitelial comienza al 3° o 4° día y los cilios reaparecen a los 15 días, lo que explica la evolución del cuadro clínico característico de la bronquiolitis.

El papel de la inmunidad humoral y celular no está clara aún. Durante los primeros dos meses de la vida existe cierta protección a la infección por VRS, gracias a la presencia de anticuerpos maternos transmitidos pasivamente, los que van disminuyendo durante los primeros 6 meses de vida. El rol de los anticuerpos en la protección es incierto, pues si bien se ha demostrado su acción protectora, la existencia de reinfecciones a lo largo de toda la vida argumenta en contra de su eficiencia. La inmunidad mediada por células es importante en la recuperación de la enfermedad, ya que los inmunodeprimidos presentan una evolución más severa y excreción más prolongada del virus. Por otro lado, las células epiteliales y macrófagos alveolares juegan un rol preponderante en la activación de la respuesta inmune celular a una infección por VRS. Estas células secretan citoquinas y mediadores pro inflamatorios, tales como IL-1, TNF alfa, IL-6, IL-8, RANTES y otras, que serían en parte responsables de los signos observados. Las células T producen mediadores de tipo Th1 y Th2. Las células Th1 secretan IL-2, interferón gama y linfotóxica (respuesta defensiva) mientras que Th2 producen IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13. La producción de IgE y eosinofilia es estimulada por IL-4 e IL-5 (reacción alérgica). Un desbalance en la respuesta Th1 y Th2 podría ser responsable de una mayor severidad de la enfermedad, lo que también podría estar influenciado por factores genéticos del individuo.

El VRS es capaz de producir desde infecciones respiratorias altas hasta bronquiolitis o neumonías. También se ha asociado a secuelas pulmonares a largo plazo, como hiperreactividad bronquial, asma bronquial y bronquiectasia. No se sabe por qué algunos niños sanos presentan mayor severidad. Existirían factores de riesgo de evolución severa dependientes del huésped, del virus y del ambiente. Los factores dependientes del huésped han sido clásicamente descritos: cardiopatías congénitas, displasia broncopulmonar, prematuridad, inmunodeficiencia y fibrosis quística. La edad es un factor importante y 25 a 40% de lactantes menores de 6 meses con primoinfección presentan IRA baja; el menor de 6 semanas puede presentar apneas. Es probable que la infección por VRS sea más severa en aquellos niños con función pulmonar disminuida al nacer o con predisposición genética a desarrollar asma. Existen variaciones antigénicas y genéticas del VRS cuya significación clínica y epidemiológica está en estudio; no se ha encontrado diferencia de virulencia entre cepas A y B. Entre los factores ambientales más importantes destaca el tabaquismo materno. El hacinamiento, un mayor número de hermanos y una mayor cantidad de virus en secreción nasal se han asociado a mayor severidad. La temperatura ambiental y la contaminación aérea (PM10) no han mostrado una asociación directa con severidad, siendo la presencia de epidemias de VRS el factor más importante de demanda de hospitalización por enfermedades respiratorias en lactantes.

Diagnóstico de laboratorio.

El diagnóstico de VRS se puede hacer por aislamiento en cultivo celular o detección de componentes virales en muestras de secreción respiratoria. Hay muchas técnicas de diagnóstico disponibles y su elección depende de los objetivos. La IFI o ELISA, que habitualmente utilizan anticuerpos monoclonales contra las proteínas F y/o G del manto, son más sensibles, rápidas y aplicables que el aislamiento y se recomiendan para estudios clínicos y epidemiológicos. El aislamiento permite recuperar cepas para estudios de caracterización molecular. La RT-PCR tiene mejor sensibilidad que las anteriores, y se usa preferentemente en investigación. La determinación de anticuerpos séricos - hecha con neutralización, IF o ELISA y antiguamente con fijación del complemento - no está disponible, salvo para fines de

investigación. Las técnicas habituales no son suficientemente sensibles para estudiar infección por VRS en adultos, en los que se recomienda usar RT-PCR y serología

Profilaxis y tratamiento.

El aislamiento relativo de los niños en riesgo de evolución severa y el lavado de manos son medidas simples de prevención relativamente efectivas. Basado en que la gravedad de la infección se relaciona inversamente con el nivel de anticuerpos del niño, se ensayó la administración de inmunoglobulina específica anti VRS endovenosa en prematuros con y sin displasia broncopulmonar (DBP), logrando disminuir las hospitalizaciones. Posteriormente, el desarrollo de anticuerpos monoclonales anti VRS (Palivizumab^R) representó un nuevo avance. La Academia Americana de Pediatría recomienda su uso en prematuros menores de 32 semanas y en portadores de DBP menores de 2 años. Se administra vía intramuscular, 15 mg/kg mensual, durante la temporada de VRS: en Chile entre Mayo y Septiembre

El desarrollo de una vacuna ha sido infructuoso por la débil respuesta inmune en recién nacidos y lactantes pequeños y la experiencia negativa con vacuna inactivada en los años 60, la que se asoció a una infección natural posterior más severa; la explicación más aceptada de ese hecho es un desbalance entre la respuesta de tipo Th1 y Th2. Actualmente no se dispone de vacuna. Se están desarrollando vacunas de subunidades y con cepas atenuadas, y dadas las dificultades inherentes a la patogenia de la infección por VRS, el objetivo primario es prevenir la enfermedad severa, más que la infección por el virus.

La infección por VRS es autolimitada y el tratamiento es sintomático. Debe evaluarse la situación clínica y el grado de saturación de oxígeno cuando hay obstrucción bronquial, pues con saturaciones bajo 95% se recomienda hospitalizar para administrar oxígeno. El uso de broncodilatadores y corticoides es controvertido y sólo podría tener indicaciones en presencia de antecedentes de asma. El uso de ribavirina en aerosol tampoco ha dado los resultados esperados. La ventilación mecánica, último recurso terapéutico ante la insuficiencia respiratoria, ha logrado bajar la letalidad de la infección

METAPNEUMOVIRUS HUMANO (HMPV)

El metapneumovirus humano (hMPV) fue descrito en el 2001 por holandeses. Se ha asociado a infección respiratoria aguda (IRA) en niños, adultos e inmunocomprometidos. Por sus características estructurales se clasificó, al igual que el VRS, en la familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Pneumovirinae*, pero en un género distinto: *Metapneumovirus*, junto al único miembro previamente descrito, el metapneumovirus aviar (AMPV). Se han identificado dos grupos: A y B, cada uno dividido en los subgrupos 1 y 2.

Este virus posee un RNA de hebra simple negativa no segmentada, cuya organización es diferente a la del VRS y carece de los genes que codifican para las proteínas no estructurales, NS1 y NS2. El genoma asociado a las proteínas N (nucleoproteína), P (fosfoproteína) y L (*large*), conforman la nucleocápsula helicoidal que está envuelta por un manto, constituido por una bicapa de lípidos derivada de la membrana plasmática de la célula huésped, en la cual se encuentran insertas tres glicoproteínas (gp): de adhesión (G), de fusión (F) que participa en la formación de sincicios en los cultivos celulares, e hidrofóbica pequeña (SH). Tanto G como F constituyen las espículas que se encuentran en la superficie del virión. En la cara interna de la membrana estas gp interactúan con la proteína de la matriz (M). La proteína L es considerada la RNA polimerasa viral y para su funcionamiento requiere de la presencia de las proteínas N y P.

Epidemiología, patogenia y clínica.

El virus se ha detectado en diversos países del mundo como Australia, Hong Kong, Estados Unidos, Francia, Canadá, Reino Unido, Italia, Alemania, Japón, Brasil y Argentina, con incidencias variables entre 2,3%, y 17,5%, según la población estudiada. En Chile, hemos detectado este agente en 12% de menores de 2 años hospitalizados por IRA baja. Las mayores incidencias publicadas corresponden a estudios realizados en menores de 2 años con IRA, durante la época invernal.

El hMPV se presenta en epidemias anuales con una distribución estacional superpuesta a la del RSV. En algunos países, como Chile, se ha descrito una mayor frecuencia en la primavera.

El 25% de los lactantes entre 6 y 12 meses de edad y todos los niños entre los 5 y 10 años poseen anticuerpos anti hMPV. La detección de anticuerpos en muestras de 1958 indica que el virus ha estado circulando por más de 40 años.

La infección por hMPV en niños es similar a la descrita para el VRS, con una alta frecuencia de bronquiolitis (con o sin pneumonitis) y de otitis media aguda concomitante (50%). Aunque aún es controvertido, se ha relacionado con sibilancias y exacerbación del asma. La enfermedad por hMPV puede ser tan grave que el paciente debe ser ingresado a una unidad de cuidado intensivo, donde se ha determinado coinfección de RSV y hMPV. El virus también se ha detectado en pacientes con síndrome respiratorio agudo severo (SARS), habiéndose identificado como único agente en algunos casos y en coinfección con coronavirus en otros.

En adultos, hMPV se ha detectado en un 4,5% en adultos sintomáticos y asintomáticos. Una gran proporción de los pacientes sintomáticos presenta compromiso del tracto respiratorio bajo. Un grupo especialmente susceptible a la infección por este agente son los inmunocomprometidos.

Diagnóstico viral

Para el diagnóstico de hMPV, se detecta el genoma viral mediante transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). El aislamiento a partir de secreción respiratoria (aspirado nasofaríngeo, lavado bronquioalveolar) es difícil por la lenta replicación del virus, la dependencia de tripsina y la selectividad por la línea celular derivada de riñón de mono, LLC-MK2 (*Macaca mulatta*). El efecto citopático se presenta entre los 10 y 14 días post inoculación y es indistinguible del producido por RSV (sincicios). No se dispone de técnicas para detección de antígenos virales.

Profilaxis y tratamiento

No hay tratamiento ni medidas de prevención específicas. La actividad in vitro de la ribavirina y de inmunoglobulinas anti hMPV, al igual que con RSV, han planteado su utilización futura en pacientes infectados.

VIRUS PARAINFLUENZA

Los 4 virus parainfluenza (PI) pertenecen a la familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Paramyxovirinae* y géneros *Paramyxovirus* (tipos 1 y 3) y *Rubulavirus* (tipos 2 y 4). Su tamaño es de 150-300 nm. y su genoma consiste en una hebra de ARN de polaridad negativa de 15 kb. que codifica 6 proteínas estructurales. La nucleocápsula tiene simetría helicoidal y contiene polimerasas ARN dependientes. El virión tiene un manto con 2 glicoproteínas: la NH con actividades de hemaglutinina y neuroaminidasa a la vez, y la F o proteína de fusión, que

permite la penetración del virus a la célula huésped y también la formación de sincicios entre células infectadas.

Epidemiología, patogenia y clínica.

Los virus parainfluenza tienen una distribución mundial y las infecciones ocurren en brotes a lo largo de todo el año; los parainfluenza 1 tienden a producir brotes en otoño y los tipo 3 en primavera, mientras los PI 2 no tienen patrón especial. Producen habitualmente infecciones leves del tracto respiratorio superior. En niños pequeños constituyen la causa más frecuente de *crup* (laringotraqueobronquitis) que puede ser severa (serotipos 1 y 2). Son también causa de IRA bajas en menores de dos años, que se expresan como neumonías y bronquiolitis, especialmente el PI 3. El serotipo 4 parece ser poco patógeno.

La patogenia de la infección es similar a la del VRS. La infección se disemina en la comunidad por vía aérea y el contacto con manos y elementos contaminados juega un rol más importante que la transmisión por aerosoles. El período de incubación es corto (horas- pocos días). La replicación viral, con la formación de células gigantes y sincicios, determinan finalmente la muerte celular.

Diagnóstico de laboratorio.

El diagnóstico de infección por el virus PI se puede realizar por aislamiento viral en cultivos celulares, a partir de muestras de secreciones respiratorias, o bien, mediante la detección de antígenos virales en células del tracto respiratorio (IF, ELISA). La RT-PCR tiene poco uso para diagnóstico rutinario, al igual que el estudio de anticuerpos séricos en fases aguda y convaleciente.

Profilaxis y tratamiento.

No se dispone de tratamiento antiviral específico ni de vacuna

VIRUS ANDES

El virus Andes es el agente causal del Síndrome cardiorrespiratorio por hantavirus en Chile y Argentina. Pertenece al género Hantavirus de la familia *Bunyaviridae*, el cual incluye virus presentes en América, como el virus Laguna Negra en Bolivia y Paraguay y el Sin Nombre en EE. UU, que se asocian a cuadros respiratorios de rápida progresión y de elevada letalidad (40- 60%), y otros predominantes en Asia y Europa, como el virus Hantaan en Corea y China, y el virus Seoul en Asia, causantes de fiebre hemorrágica con síndrome renal.

Estos virus miden 80-110 nm de diámetro, poseen un manto en el cual se insertan las glicoproteínas G1 y G2, y que envuelve a nucleocápsulas helicoidales que contienen el genoma viral. Este está constituido por ácido ribonucleico (ARN) de una hebra de polaridad negativa, circular, conformado por tres segmentos: uno largo (L), que codifica para una RNA polimerasa RNA dependiente; uno mediano (M), que codifica para las glicoproteínas presentes en el manto viral y uno pequeño (S), que codifica para la proteína capsular Np.

Epidemiología, patogenia y clínica.

La infección por hantavirus existiría desde muy antiguo en el mundo, estando presente en África, Asia, Europa y América. En ciertas regiones, como Chile, constituye una endemia, con períodos de mayor riesgo de infección de seres humanos. Es así como en primavera y verano, la realización de labores agrícolas y forestales o actividades recreativas rurales favorece la exposición al virus aumentando el número de casos. A esto se agrega el aumento en la densidad poblacional de roedores por razones climáticas como inviernos muy lluviosos.

En nuestro país, desde 1975 hasta el 2005, se han confirmado 473 casos distribuidos entre la V y XI región, incluyendo el Área Metropolitana. El 71% de los pacientes eran hombres, con una edad promedio de 31.8 años (entre < 1 año y 76 años) y una letalidad de 31%.

El principal reservorio de los hantavirus son los roedores, quienes se contagian por vía horizontal. En la mayoría de los casos, un determinado virus es portado por un roedor específico; es así como en Chile, el ratón de cola larga (*Ologoryzomys longicaudatus*), presente entre la III y XI región, es el vector del virus Andes. El roedor excreta el virus en su saliva, deposiciones y orina por tiempos prolongados en forma asintomática. En esta zoonosis, el ser humano se infecta, en la mayoría de las situaciones, por inhalación de las partículas virales contenidas en los aerosoles producidos por la desecación de las secreciones del roedor. También es posible el ingreso del virus por ingesta de alimentos contaminados; por contacto de las manos contaminadas con las mucosas conjuntival, nasal o bucal; por mordedura de ratón y, en forma excepcional, por transmisión entre personas.

Los hantavirus replican en el citoplasma, entrando a la célula por endocitosis mediada por receptor, después de la adhesión a la célula a través de las glicoproteínas G1 y G2. La fusión de la envoltura viral con la membrana vesicular permite la liberación del virus intracelular.

La infección viral puede ser asintomática o determinar el síndrome cardiopulmonar por hantavirus. En este caso, tras un período de incubación promedio de 14 días (rango 4-42 días), se manifiesta la fase prodrómica de 3-6 días de duración, con calofríos, fiebre y mialgias intensas, con frecuencia asociadas a cefalea, molestias gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea), tos y decaimiento intenso. Continúa con el período de estado de 7 a 10 días con insuficiencia respiratoria, inestabilidad hemodinámica y shock, debido a la alteración de la permeabilidad capilar pulmonar. Esta etapa presenta un alto índice de mortalidad. Aquellos que sobreviven, pasan a la convalecencia, recuperándose totalmente.

Diagnóstico de laboratorio.

La presencia de leucocitosis y de inmunoblastos, la hemoconcentración, con hematocritos superiores a 50% y la trombocitopenia con recuentos < 150.000 en el hemograma de un paciente con sospecha de SCPH apoya el diagnóstico. Para el diagnóstico específico, el Instituto de Salud Pública es el centro de referencia, donde se detectan anticuerpos séricos de tipo IgM anti Hantavirus mediante un ensayo inmunoenzimático (ELISA). Es posible detectar RNA mediante RT-PCR y antígenos virales por inmunotinciones y aislar el virus, pero no se realizan de rutina.

Profilaxis y tratamiento.

Por ser virus con manto, los hantavirus son susceptibles a la mayoría de los desinfectantes y detergentes de uso doméstico, incluido el hipoclorito de sodio. También se inactivan en condiciones de pH extremas y con altas concentraciones salinas, con las radiaciones UV en ambientes ventilados con exposición al sol, a temperaturas superiores a 37°C. Permanece estable hasta 4°C durante 12 horas.

Como no se dispone de una vacuna efectiva, las medidas de prevención son conductuales y están dirigidas a la eliminación de los factores de riesgo, incluyendo el control de la población de roedores, evitando su acceso a la vivienda; la limpieza de lugares cerrados con evidencias de presencia de roedores; la ventilación de los lugares cerrados, y la

aplicación de desinfectantes, evitando la aerosolización de las partículas. Se debe tener especial cuidado con el lavado de manos, tapabocas, desinfección de fomites, instrumental, etc. Las personas expuestas a enfermos, en especial el personal de Salud, debe aplicar las precauciones universales para evitar la infección cruzada.

Los pacientes, debido a la rápida progresión del cuadro pulmonar, deben ser monitorizados adecuadamente en una Unidad de Cuidados Intensivos, permitiendo la conexión precoz a ventilación mecánica, en caso de ser necesario. Con respecto a la utilización de antivirales, se han realizado estudios con ribavirina, que ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de algunas fiebres hemorrágicas, pero los resultados no han sido concluyentes. Se han utilizado esteroides y suero de convalescientes, pero no hay estudios que permitan evaluar su utilidad.

CUESTIONARIO

1. Nombre los virus productores de patología respiratoria, indicando si producen IRA alta o baja, y especificando el cuadro clínico más característico
2. Mencione las poblaciones más susceptibles de infecciones graves por virus respiratorios.
3. Destaque algunas características estructurales relevantes de cada virus respiratorio
4. Nombre tres hechos destacables comparando rinovirus con coronavirus.
5. Fundamente la clasificación de virus influenza en tipos, subtipos, cepas, etc.
6. Nombre los antígenos de superficie de los virus influenza. Señale su función y su importancia.
7. Explique los mecanismos de variación antigénica en virus influenza (shift y drift)
8. Mencione qué problemas tiene la vacuna para controlar una epidemia de influenza
9. Señale la importancia de los polipéptidos II, III y IV en infecciones por adenovirus.
10. ¿Qué cuadros clínicos pueden ocasionar los adenovirus?
11. Mencione los potenciales peligro de la infección respiratoria por adenovirus
12. Fundamente la importancia epidemiológica del VRS
13. Describa los grupos de riesgo de infección severa por VRS
12. Explique las dificultades encontradas para desarrollar una vacuna para VRS
13. En qué circunstancias Ud. plantea diagnóstico de laboratorio para confirmar virus respiratorios.
14. Señale qué técnicas de laboratorio se utilizan para el diagnóstico de las IRA virales.
15. Mencione las virosis respiratorias que tienen tratamiento específico

BIBLIOGRAFÍA

1. Graeme W, Bischofberger N, Webster R. Disarming flu viruses. Scientific American, marzo 1999
2. Avendaño L F, Palomino M A, Larrañaga C. Surveillance for Respiratory Syncytial Virus in infants hospitalized for acute lower respiratory infection in Chile (1989 to 2000). J Clin Microbiol 2003; 41: 4879-82

3. Palomino M A, Avendaño LF. Infecciones respiratorias por VRS y adenovirus en Chile: que hemos aprendido en 14 años de vigilancia epidemiológica. *Pediatría (Stgo)* 2003; 38-47.
4. Avendaño LF, Parra J, Padilla C, Palomino MA. Impacto en salud infantil del invierno 2002: disociación entre factores ambientales y virus respiratorio sincicial, en Santiago. *Rev Méd Chile* 2003; 131(8): 902-908.
5. Palomino MA, Larrañaga C, Villagra E, Camacho J, Avendaño LF. Adenovirus and respiratory syncytial virus-Adenovirus mixed acute lower respiratory infections in Chilean infants. *Ped Infect Dis J* 2004 (4): in press
6. Kajon A, Larrañaga C, Suárez M *et al.* Genome type analysis of chilean adenovirus strains isolated in children's hospital between 1988-1990. *J Med Virol* 1994; 42: 16-21
7. Kajon A. Familia *Adenoviridae*. En: Carballal G, Oubiña JR. *Virología Médica*. Buenos Aires: El Ateneo, 1991: 273- 80.
8. Carballal G, Oubiña JR. *Virología Médica*. Buenos Aires: El Ateneo, 1991.
9. Collier L, Oxford J. *Human Virology*: Oxford University Press, 2000.
10. van den Hoogen BG y cols. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med*. 2001; 7 (6):719-24.
11. Falsey AR y cols. Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis*. 2003; 187 (5): 785-90.
12. Pelletier G y cols. Respiratory tract reinfections by the new human Metapneumovirus in an immunocompromised child. *Emerg Infect Dis*. 2002; 8 (9): 976-8.
13. hantavirus: www.epi.minsal.cl
14. *Revista Chilena de Infectología* 2000; 17 (3).Suplemento : Infección por hantavirus en Chile

FIGURA 1. ESQUEMA DE UNA PARTÍCULA DE VIRUS INFLUENZA.

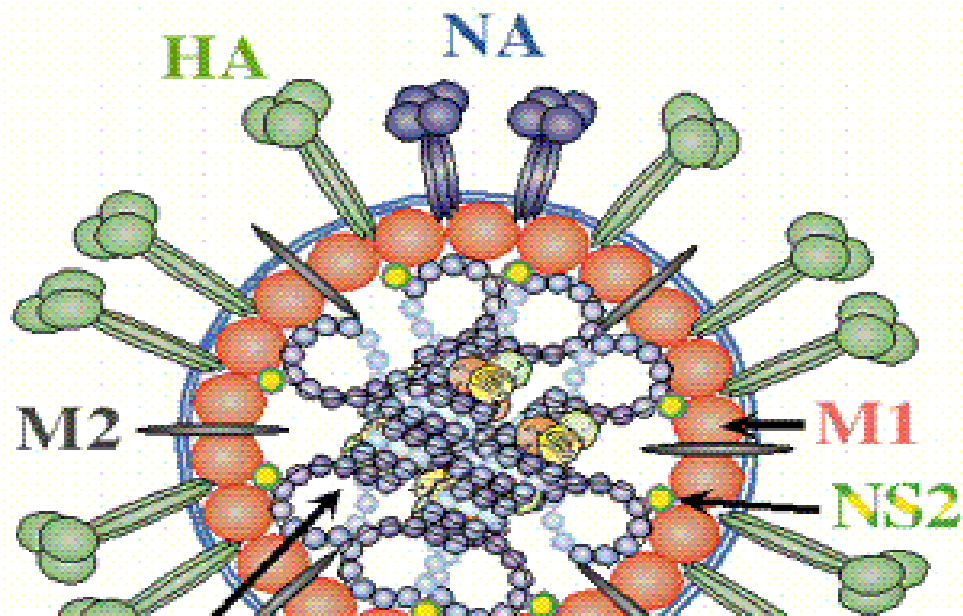


FIGURA 2. ESQUEMA DE UNA PARTÍCULA DE ADENOVIRUS.

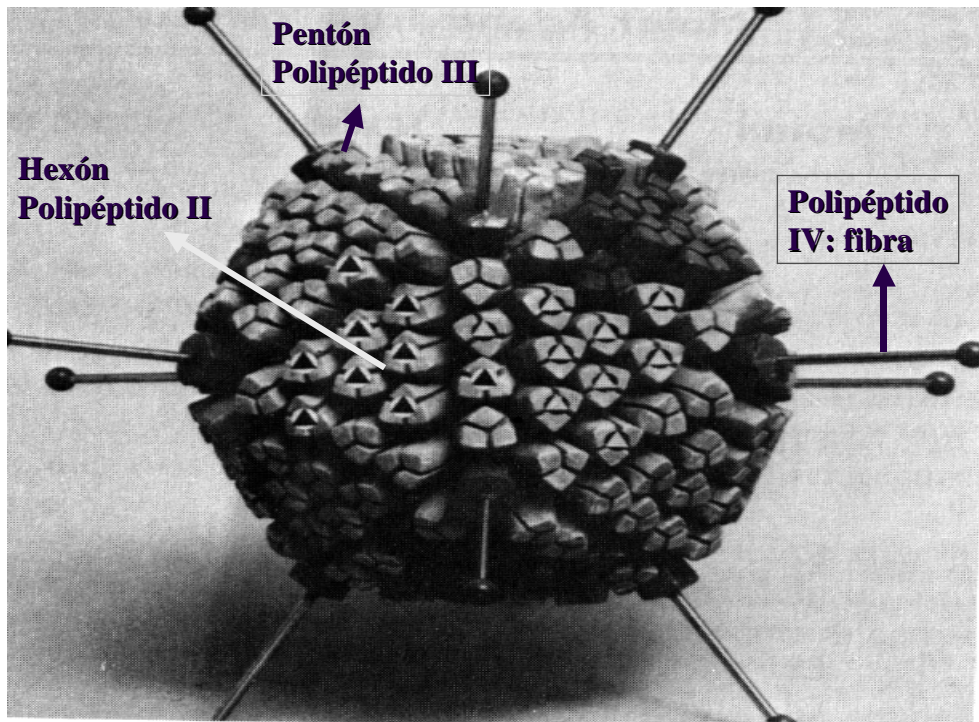
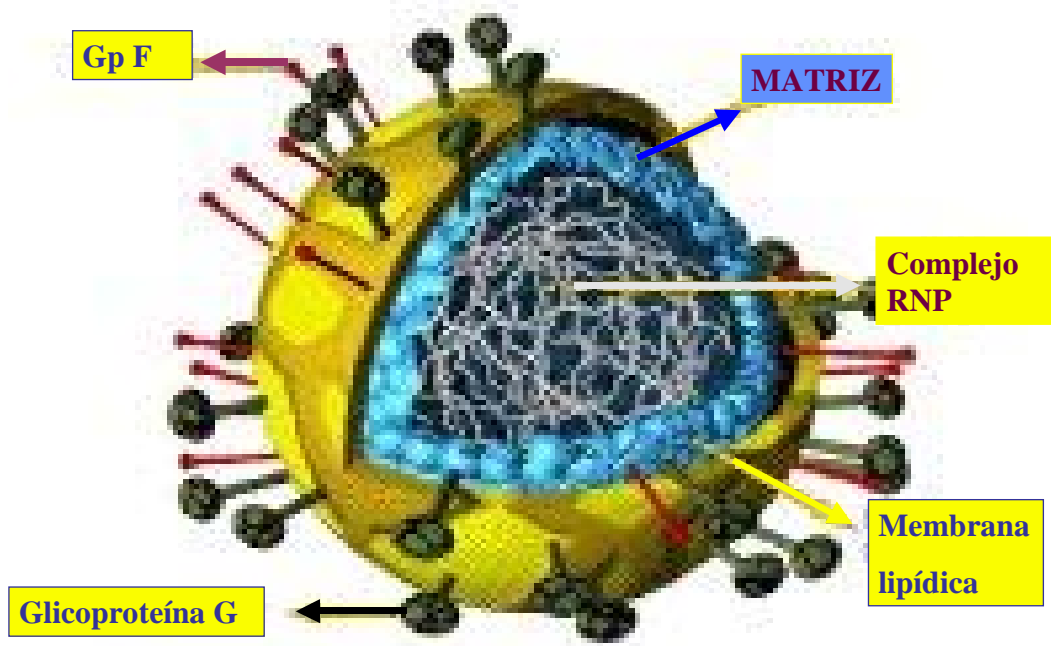


FIGURA 3. ESQUEMA DE UNA PARTÍCULA DE VIRUS RESPIRATORIO SINCIAL.



CAPITULO 8

INFECCIONES VIRALES DEL APARATO DIGESTIVO

Al analizar la relación entre virus y aparato digestivo se observa que varios tipos de virus pueden comprometer diferentes niveles del tubo digestivo y sus glándulas anexas (Tabla 8-1).

La estructura de estos virus difiere, dependiendo del grupo en referencia: RNA o DNA, desnudos o envueltos, icosaédricos o helicoidales, pequeños o grandes, etc. Son capaces de inducir infecciones clínicas y subclínicas. El reservorio de virus lo constituyen seres humanos con infecciones aparentes o inaparentes, localizadas o diseminadas. El mecanismo de contagio más común es indirecto a través de diversos vehículos, como el agua y los alimentos, y su ejemplo clásico son los enterovirus (hepatitis A) que se adquieren por la vía fecal-oral; por lo tanto, la frecuencia de algunas de estas infecciones depende del estado sanitario de la comunidad. Sin embargo, muchos de estos virus pueden transmitirse por mecanismo directo, ya sea por contacto físico o vía aérea (herpes, parotiditis, enterovirus, etc). Finalmente, algunos virus pueden contagiarse vía parenteral, como los de las hepatitis B y C. La puerta de entrada más común es la boca y la faringe.

ÁREAS AFECTADAS

Se destacarán los hechos más relevantes de las infecciones virales del aparato digestivo, considerando que muchos virus pueden afectar varios sistemas y algunos de ellos se analizarán con mayor detalle en otros capítulos.

BOCA Y FARINGE

Muchos virus pueden comprometer la mucosa bucal, en forma exclusiva o como parte de una infección general:

Virus herpes simplex . El virus herpes simplex (HSV) entra preferentemente por la mucosa bucal y se estima que cerca del 90% de los primoinfectados son asintomáticos. Con cierta frecuencia produce una gingivoestomatitis en el niño menor de dos años, manifestada por lesiones ulcerosas (tipo aftas) en la mucosa, dolorosas y acompañadas de fiebre. Este virus, como toda la familia *Herpesviridae*, tiene la capacidad de permanecer latente y puede reactivarse produciendo manifestaciones de recurrencia de diversa magnitud, generalmente más tenues que la infección primaria. La forma de recurrencia más común es el herpes labial, denominado vulgarmente "fuego", de evolución corta y benigna; sin embargo, las recurrencias a nivel ocular, como queratitis, representan problemas de difícil solución pues son causa importante de opacidad corneal. La infección aguda por este virus es susceptible de ser tratada con aciclovir, pero su uso debe restringirse a los casos más severos. Hay controversias sobre el uso de aciclovir en lactantes con gingivoestomatitis herpética primaria, aunque se dispone de aciclovir en suspensión para uso pediátrico.

Enterovirus. Otro cuadro clínico relativamente frecuente es la herpangina, que se caracteriza por la aparición de pequeñas vesículas en el paladar duro y la base de la úvula, acompañada a veces de fiebre y/o exantema maculoeritematoso. Se asocia a enterovirus, especialmente a virus Coxsackie A, y las manifestaciones clínicas desaparecen espontáneamente en pocos días.

Su nombre se debe al hecho de que su hábitat normal es el aparato digestivo. Pertenecen a la familia *Picornaviridae*, la cual está constituida por diferentes géneros: *Enterovirus*, *Rhinovirus*, *Hepatovirus*, *Aftovirus* y *Cardiovirus* (los dos últimos infectan animales). Los enterovirus constituyen un grupo de virus pequeños (20-30 μ m) de RNA monoténico no segmentado de polaridad positiva, icosaédricos, desnudos, bastante estables en el medio ambiente y a pH ácido, lo que les permite, luego de su replicación inicial en la orofaringe, infectar el tracto digestivo inferior. Este grupo

incluye 72 virus diferentes, clasificados en virus ECHO, Coxsackie A y B, poliomielitis 1-3 y hepatitis A (Tabla 8-2).

Los enterovirus se transmiten por vía fecal-oral. El período de incubación promedio es de 7-14 días (rango 2-35). Un individuo infectado en forma sintomática o asintomática puede excretar virus por deposiciones por varias semanas y desde la faringe por 1-2 semanas. En la puerta de entrada, faringe y placas de Peyer, el virus replica y alcanza los ganglios linfáticos regionales. Desde allí ocurre la primera viremia para llegar al sistema reticuloendotelial (SRE). En infecciones asintomáticas la infección se interrumpe a este nivel y se producen anticuerpos específicos. En muy pocos casos la replicación en el SRE genera una segunda viremia, de mayor cuantía, que le permite alcanzar otros órganos blancos (intestino, eventualmente sistema nervioso, etc). En esta etapa el paciente puede presentar síntomas inespecíficos. Si los enterovirus alcanzan al sistema nervioso, especialmente los virus polio que tienen un alto tropismo por este tejido, el paciente presentará manifestaciones clínicas neurológicas (ver Capítulo : Virus y sistema nervioso).

Si bien la infección por enterovirus puede tener manifestaciones diversas, generalmente es subclínica. Algunos virus ECHO se han asociado a diarrea; sin embargo, lo más frecuente es que produzcan cuadros febriles cortos, con o sin exantema.

A nivel de faringe hay dos virus que merecen mención especial: los adenovirus y el virus Epstein-Barr (EBV):

Adenovirus. Los adenovirus son agentes patógenos importantes del aparato respiratorio y representan la primera causa de faringitis del niño menor de dos años. En efecto, en la etiología de las faringitis el factor etario es importante, pues a partir de los 5 años la faringitis estreptocócica tiende a predominar, con la consiguiente necesidad del uso de antibióticos; por el contrario, la presencia de fiebre, odinofagia y congestión faríngea con o sin exudado en lactantes, es sugerente de una faringitis viral que sólo requiere terapia sintomática.

Virus Epstein-Barr. El EBV es un virus DNA perteneciente a la familia *Herpesviridae*, cuya principal manifestación clínica es la mononucleosis infecciosa. Se contagia por vía aérea y, aunque puede infectar más tempranamente, afecta con frecuencia a escolares y adolescentes, en cuya transmisión parece que el beso juega un papel importante. Luego de la infección aguda, el virus queda latente de por vida en algunos linfocitos B; se ha asociado a dos cánceres en humanos: el linfoma de Burkitt y el carcinoma nasofaríngeo. La tríada sintomática clásica de la infección aguda se observa en el 50% de los casos y consiste en fiebre, amigdalitis y adenopatías. El compromiso faríngeo es muy parecido al de la amigdalitis estreptocócica, y frecuentemente se plantea mononucleosis cuando una amigdalitis no responde al tratamiento habitual con antibióticos; incluso si se ha administrado amoxicilina, la aparición de un exantema es muy frecuente. La evolución es generalmente favorable en 2-3 semanas, aunque a veces la fiebre puede ser alta y mantenida por muchos días. No hay tratamiento específico ni vacuna en desarrollo.

Hay otros virus que comprometen en forma muy característica la mucosa orofaríngea, pero representan sólo una localización de un cuadro general: varicela, sarampión y rubeola.

ESTÓMAGO E INTESTINO

Rotavirus. Los rotavirus son los agentes etiológicos virales más importantes de la diarrea infantil en todo el mundo. Se estima que entre 5 a 10 millones de niños mueren anualmente por diarrea en Asia, África y Latinoamérica, de los cuales aproximadamente 800.000 serían por esta causa. En Chile representa el principal agente causante de diarrea que requiere hospitalización y se presenta durante todo el año, aunque en la mayoría de los países, la circulación de rotavirus es estacional, predominando en invierno. Diferentes estudios realizados en países industrializados, así como en países en vías de desarrollo, demuestran que en niños menores de dos años de edad, los rotavirus causan entre 10 al 50% de las hospitalizaciones por diarrea aguda.

Este virus pertenece a la familia *Reoviridae*. Su estructura corresponde a un virus icosaédrico, no envuelto y de 70 nm de tamaño. La cápside viral tiene 3 capas; una doble cápside (externa e interna) y un core que contiene el genoma formado por 11 segmentos de RNA de doble hebra. Esta morfología particular se observa como una rueda al microscopio electrónico (rota=rueda), lo que le dio el nombre al virus.

Cada segmento genómico codifica para una proteína estructural o no estructural. VP6 corresponde a la proteína más abundante en la partícula viral y conforman la cápside interna; se ha usado para el desarrollo de técnicas de ELISA empleadas para diagnóstico. Basado en VP6, los rotavirus se han clasificado en 7 grupos o serogrupos (A-G); los grupos A, B y C se han encontrado en el hombre y animales y el resto sólo en animales. Los rotavirus del grupo A corresponden al principal agente etiológico de diarrea aguda en niños menores de dos años en el mundo, los del grupo B se han asociado a brotes epidémicos de diarrea ocurridos en China; y los rotavirus del grupo C se han asociado con brotes de diarrea en adultos en Asia, Europa y Latinoamérica.

La cápside externa está formada por las proteínas VP7 y VP4. La proteína predominante es VP7 y corresponde a una glicoproteína de 34 kDa que participa en la adsorción del virus a la célula. A su vez, VP4 es una proteína de 87 kDa con función hemaglutinante. Tanto VP7 como VP4 son antígenos virales que inducen anticuerpos neutralizantes; poseen diferentes formas inmunológicas y determinan el serotipo viral. Ambas proteínas están codificadas por genes distintos, los que pueden combinarse de manera independiente y dar origen a reordenantes que posean neutralización heteróloga para ambos antígenos. Estas proteínas forman la base de la clasificación binaria de rotavirus, VP7 (tipos G) y VP4 (tipos P). Para VP7 se han descrito 14 variantes o tipos G, de los cuales 10 se han identificado en virus humanos y para VP4 se sugiere la existencia de 18 tipos P, de los cuales 9 se han identificado en el hombre. Los estudios epidemiológicos han revelado que los virus circulantes más frecuentes en el mundo son los tipos G1P[8], G3P[8], G4P[8] y G2P[4], que representan asociaciones de cuatro tipos VP7 (tipos G) y dos tipos VP4 (tipos P).

El patrón de migración de los 11 segmentos del RNA en geles permite definir distintos "electroferotipos", lo que se ha usado en estudios de epidemiología molecular. Por otra parte, existen rotavirus que infectan animales (aves, porcinos, vacunos, monos y otros) y no son patógenos para el hombre, por lo que podrían utilizarse para desarrollar vacunas. Todos estos elementos de clasificación representan herramientas que la biología molecular está usando para el control de los rotavirus, mediante distintas estrategias de desarrollo de vacunas (Figura 8-1).

El virus es muy estable en el medio ambiente y su transmisión ocurre por la vía fecal-oral; sin embargo, la alta contagiosidad observada en centros de atención cerrada hace pensar que el virus puede volatilizarse e ingresar por vía aérea al nasofarinx. Generalmente afecta a niños menores de dos años, especialmente menores de un año. El virus se localiza en las vellosidades intestinales destruyendo la mucosa, lo que provoca una diarrea de 3 a 5 días de duración. Recientemente se ha identificado una proteína del virus con carácter de toxina, que podría explicar la patogenia de la diarrea. El cuadro clínico típico se inicia con fiebre y vómitos intensos, que ceden al segundo día dando paso a una diarrea acuosa intensa, que puede provocar deshidratación; probablemente el 50% o más de las infecciones son subclínicas. La primoinfección aparentemente deja una inmunidad parcial, pues si bien son frecuentes las reinfecciones, éstas tienden a ser asintomáticas. Además se ha demostrado que la respuesta inmune que induce la infección por un tipo antigénico protege contra una nueva exposición a la misma variante viral (protección homotípica), que a la exposición por un tipo distinto (protección heterotípica). Esta situación ha derivado en el desarrollo de vacunas multivalentes, que contienen las variantes de VP7 y VP4 más prevalentes o de mayor circulación en la población a nivel mundial. Si bien en 1998 la FDA autorizó el uso de una vacuna multivalente, dicha vacuna en la actualidad se encuentra suspendida en su uso comercial, debido a su asociación con la ocurrencia de invaginación intestinal. Si bien hay otras vacunas en diferentes etapas de evaluación, todas las vacunas desarrolladas están orientadas a reducir la severidad de la infección, ya que no ha sido posible prevenir la infección.

Astrovirus

Astrovirus son virus RNA de simple hebra, de 28 nm de tamaño, desnudos que en 1975 fueron identificados mediante microscopía electrónica de heces de niños con diarrea, como partículas con forma de estrella. Empleando esta técnica, se identificó a este virus como causa de episodios esporádicos y también de brotes de diarrea en niños y adultos. Los estudios desarrollados usando técnicas inmunoenzimáticas indicaron que astrovirus es un agente relativamente común de gastroenteritis, más frecuente de lo que previamente se había descrito, asociándose entre el 2 a 8% de los episodios de diarreas en niños. Estos métodos son más sensibles, específicos y adecuados que la microscopía electrónica para la realización de estudios masivos.

El clonamiento y secuenciación del virus permitió clasificarlo en una nueva familia, *Astroviridae*, y a su vez, permitió desarrollar métodos basados en la detección del genoma viral, como sondas moleculares y PCR. Se han identificado hasta el momento 7 serotipos de astrovirus humanos designados HAstV-1 al HAstV-7.

En un estudio reciente realizado en cinco hospitales de Santiago, se detectó un 10 a 12% de astrovirus en deposiciones de niños que consultaron por diarrea aguda no enterocólica. Otro estudio posterior, detectó un 4.5 a 8.6% de astrovirus en muestras de deposiciones de niños provenientes de hospitales, servicios de urgencia y consultorios.

Calicivirus

Los Calicivirus son virus RNA de simple hebra, icosaédricos desnudos, de aproximadamente 27 nm de tamaño, que pertenecen a la familia *Caliciviridae*. Su clasificación ha sido recientemente reevaluada según nuevos criterios genéticos y comprende actualmente 4 géneros, los Norwalk-like y Sapporo-like, responsables de gastroenteritis en el hombre, y los géneros Vesivirus y Lagovirus que infectan a animales.

Los calicivirus humanos (HuCV) se diferencian genética y antigénicamente entre sí. La secuencia completa del genoma de virus Norwalk y virus Southampton, ha permitido su caracterización en tres genogrupos; genogrupo 1 representado por virus Norwalk, genogrupo 2 por virus Toronto, virus Hawaii y virus Snow Mountain, y genogrupo 3 representado por virus Sapporo. Estos virus y particularmente virus Norwalk, son los agentes causales más importantes de gastroenteritis aguda epidémica no bacteriana debida a consumo de alimentos y agua contaminada, una enfermedad que se presenta en brotes familiares o en la comunidad y que predominantemente afecta a niños en edad escolar y adultos.

Adenovirus entéricos

Adenovirus son virus DNA icosaédricos desnudos, de 65 a 80 nm de tamaño. Muchos de los 51 serotipos de adenovirus humanos descritos hasta ahora pueden ser eliminados por las deposiciones, a menudo por períodos prolongados, sin asociarse a diarrea. Existen evidencias serológicas y epidemiológicas que sugieren que la infección con adenovirus 40 (Ad40) y adenovirus 41 (Ad41) puede resultar en una diarrea aguda severa en niños. Estos dos serotipos pertenecen al subgrupo F del género Adenovirus, exhiben reacción cruzada en ensayos de neutralización, presentan diferentes perfiles de restricción enzimática y son denominados adenovirus entéricos. También se ha reportado que Adenovirus 31, del subgrupo A, puede asociarse a cuadros de diarrea. Los adenovirus entéricos son agentes importantes de diarrea en niños, asociándose al 7 al 15% de los casos. Estudios realizados en Chile han detectado prevalencias entre 7 a un 8%.

Otros virus enteropatógenos

Otros virus causantes de gastroenteritis presentan un menor impacto epidemiológico, lo que se ha traducido en una escasa disponibilidad de técnicas de diagnóstico. Lo que ha dificultado su identificación. Entre estos virus se encuentran: enterovirus, coronavirus entéricos, torovirus, picobirnavirus y el virus Aichi.

Los coronavirus entéricos humanos se asocian a gastroenteritis en los neonatos, en donde se les ha implicado como causa de enterocolitis necrosante y, en general, en niños menores de 12 años. Los torovirus están implicados en la producción de diarrea, en ocasiones sanguinolenta, con frecuencia de adquisición nosocomial.

Los picobirnavirus, virus cuyo genoma está constituido por dos segmentos de RNA bicatenario, se han detectado principalmente en individuos inmunodeficientes, por ejemplo, pacientes infectados con HIV.

El virus Aichi fue identificado en Japón en 1991, a partir de pacientes con gastroenteritis asociada al consumo de ostras. La secuenciación del genoma viral demostró que se trata de un Picornavirus. No hay estudios respecto a la prevalencia de la infección por este virus en otros países.

El desarrollo de métodos de detección específicos para estos virus, permitirá en un futuro establecer y avanzar en el conocimiento de su importancia epidemiológica.

GLÁNDULAS SALIVALES

El virus de la parotiditis es un virus RNA helicoidal, con manto, clasificado en la familia *Paramyxoviridae*. Ingresa al organismo vía aérea y se localiza primariamente en las glándulas salivales parótidas, sublinguales y submaxilares. La infección puede limitarse a esa localización o diseminarse vía sanguínea a otros órganos y tejidos: meninges, testículos, ovarios y páncreas. Lo más frecuente es el compromiso bi o unilateral de las parótidas, hecho que justifica la denominación de parotiditis o paperas. Sin embargo, se estima que alrededor del 50% de las infecciones ocurre en forma subclínica (Figura 8-2). El diagnóstico es eminentemente clínico, aunque existen técnicas de inmunodiagnóstico para confirmar la infección viral. Las complicaciones clínicas más complejas son la orquitis, que puede ocasionar esterilidad en aproximadamente 1% de los casos, y la meningitis aséptica, de evolución benigna; también se ha asociado a casos de diabetes y sordera. Si bien es una infección benigna casi obligada de la infancia, estas complicaciones han justificado la recomendación de utilizar una vacuna, por virus atenuado, que se administra a los 12 meses de vida junto con la antirubéola y la antisarampión (tri-vírica), con una dosis de refuerzo en edad escolar. La implementación de esta vacuna en Chile como parte del programa ampliado de vacunaciones (PAI) en 1990, ha sido seguida una gran disminución de la enfermedad: de tasas de 198 por 100.000 htes. en 1991 se ha estabilizado en niveles de 15 por 1000.000 htes. desde 1997.

HÍGADO

Actualmente hay 7 virus descritos como agentes etiológicos de hepatitis, estructuralmente diferentes; existen además otros virus que pueden provocar hepatitis dentro de una infección general, como HSV, Epstein-Barr, citomegalovirus, etc., los que se tratarán en otro capítulo.

CUESTIONARIO

1. ¿Cómo influye la estructura de los virus en su capacidad para afectar el aparato digestivo?
2. Mencione las posibles fuentes y los mecanismos de transmisión de los virus que afectan al aparato digestivo.
3. ¿Cuántas infección por virus herpes simples se puede tener en la boca en la vida?
4. Mencione 3 hechos que hagan sospechar la etiología viral de una faringitis.
5. ¿Cómo resuelve el diagnóstico diferencial entre mononucleosis infecciosa y amigdalitis bacteriana?
6. Mencione los posibles agentes virales causantes de diarrea, ¿cuál es el más importante y por qué?
7. ¿Cuántos episodios diarreicos de naturaleza viral podría tener un niño en los primeros 3 años de vida?
8. Mencione los componentes estructurales del rotavirus y explique su importancia.
9. ¿Cómo se clasifican los rotavirus?
10. Describa el cuadro clínico característico de una infección por rotavirus.
11. ¿Qué importancia puede tener el identificar una cepa de rotavirus presente en una comunidad?
12. ¿Qué estrategias podría diseñar para desarrollar una vacuna contra rotavirus?
13. ¿Cuándo sospecha Ud de infección por calicivirus?
14. ¿Cómo explica que coincidan epidemias de parotiditis con meningitis virales?
15. ¿Qué infecciones virales se ven favorecidas por un mal sistema de alcantarillado y agua potable? Especifique y fundamente.
16. Explique porqué a medida que se va creciendo, algunas infecciones virales digestivas disminuyen y otras aumentan.

TABLA 8-1. INFECCIONES VIRALES DEL APARATO DIGESTIVO

<u>LOCALIZACIÓN</u>	<u>VIRUS</u>
BOCA Y FARINGE	Herpes simplex Adenovirus Enterovirus (Coxsackie A) Virus Epstein-Barr Otros (varicela, sarampión, rubeola, etc)
INTESTINO	Rotavirus Calicivirus Astrovirus Adenovirus entéricos (tipos 40 y 41) Enterovirus Coronavirus Torovirus Virus Aichi (Picornavirus) Picobirnavirus
GLÁNDULAS SALIVALES	Parotiditis
PÁNCREAS	Parotiditis
HÍGADO	Hepatitis (A, B, C, Delta, E, G, H)

TABLA 8-2. CLASIFICACIÓN DE LOS ENTEROVIRUS

<u>GÉNERO</u>	<u>ESPECIE</u>	<u>SEROTIPOS</u>
Enterovirus	Polio	(1-3)
	Coxsackie A	(A1-A22, A24)
	Coxsackie B	(B1-B6)
	ECHO	(1-9, 11-27, 29-33)
	Enterovirus humanos*	(68-71, el 72 corresponde al VHA)

* A partir de 1970 los nuevos miembros del género enterovirus se denominaron enterovirus humanos asignándoseles un número que los identifica, siguiendo la secuencia y comenzando con el 68.

FIGURA 8-1. ESTRUCTURA DE LOS ROTAVIRUS.

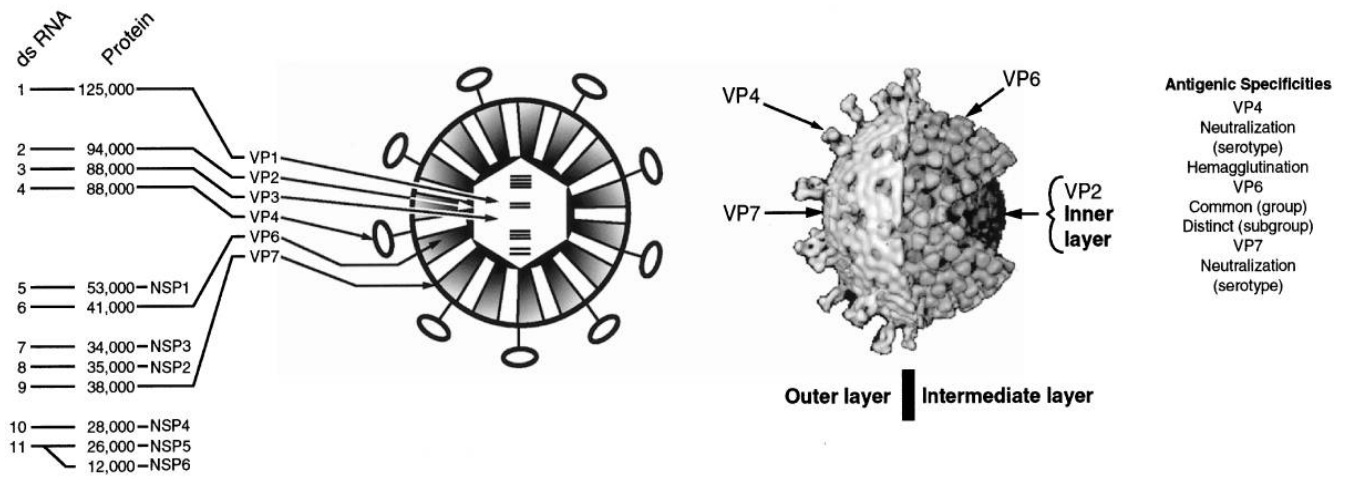
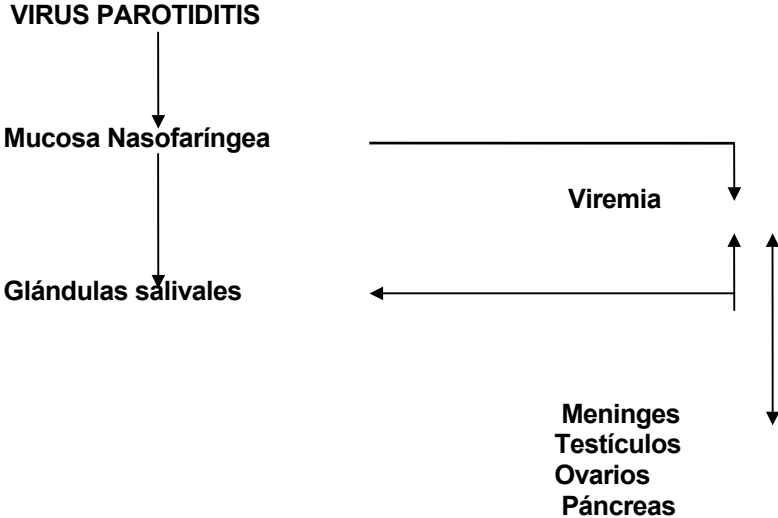


FIGURA 8-2. PATOGENIA DE LA INFECCIÓN POR VIRUS PAROTIDITIS



BIBLIOGRAFÍA

1. Avendaño LF, Barraza P, Calderón A, Matamala I, Duarte E, Spencer E. Infección intrahospitalaria por rotavirus en lactantes. *Rev Chil Infectol* 1986; 89- 98.
2. Grandien M, Forsgren M, Ehnst A. Enteroviruses and retroviruses. En: Schmidt N, Emmons R. *Diagnostic pocedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*, 6ª ed. Washington: American Public Health Ass, 1989; 513- 76.
3. Herrman J, Blacklow N. Gastroenteritis viruses. En: Schmidt N, Emmons R. *Diagnostic pocedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*, 6ª ed. Washington: American Public Health Ass, 1989; 925- 56.
4. Kapikian AZ, RM Chanock. Rotaviruses. En: Fields B, Knipe DM *et al. Virology*, 2ª ed. New York: Raven Press, 1991; 1353- 1404.
5. Gaggero, A., O’Ryan, M., Noel, J., Glass, R., Mamani, N., Prado, V. & Avendaño, L. F. Prevalence of astrovirus infection among chilean children with acute gastroenteritis. *J. Clin. Microbiol.* 1998;12:3691-3693.
6. Gaggero, A., Avendaño, L.F., Fernández, J. & Spencer, E. Nosocomial transmission of rotavirus from patients admitted for diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30:3294-3297.

VIRUS HEPATOTROPOS

El conocimiento en relación a las hepatitis virales ha experimentado un notable incremento en los últimos años, reconociéndose como un serio problema en salud pública a nivel mundial y afectando a varios cientos de millones de seres humanos. Sin embargo, hasta 1960 sólo existían evidencias epidémicas e inmunológicas que permitían sospechar que tanto las heces, como el contacto sexual o la transfusión de hemoderivados de individuos con alteración de la función hepática, podían transmitir la enfermedad.

Virus productores de hepatitis.

Se reconocen en la actualidad 6 agentes virales productores de hepatitis: el virus de la hepatitis A (HAV), el virus de la hepatitis B (HBV), el virus de la hepatitis C (HCV), el virus de la hepatitis D (HDV), el virus de la hepatitis E (HEV) y el virus de la hepatitis G (HGV) (Tabla 9-1). Existen además otros virus que pueden originar compromiso hepático pero sin que este tejido constituya su principal órgano blanco (Ej.:CMV, EBV, ADV, etc.).

VIRUS HEPATITIS A (HAV). En 1975 se identificó por primera vez la partícula viral de un tamaño aproximado a los 27 η m, icosaédrica, sin manto, que contiene un RNA monocatenario. Pertenece a la familia *Picornaviridae* (enterovirus tipo 72). Se replica en el citoplasma celular y determina la lisis del hepatocito infectado; sólo origina infecciones agudas.

Epidemiología y patogenia. La prevalencia de la infección varía en los diferentes países; es baja en países desarrollados (alrededor de 20%) y alta en países en desarrollo (aproximadamente 90%). En estos últimos, la prevalencia es mayor en estratos socioeconómicos bajos. La mayor incidencia de la infección se origina en la población infantil y existe un predominio estacional, relacionado al mecanismo de transmisión fecal-oral. Luego de un período de incubación de 15 a 45 días, el virus origina una infección aguda que generalmente es asintomática. El daño del órgano blanco se debería a la replicación del virus en el hepatocito (daño directo). Si bien se postulan mecanismos de daño indirecto, se desconoce la existencia de una acción deletérea mediada por mecanismos inmunológicos. Después de aproximadamente 4 semanas de ocurrida la infección, el VHA se expresa en forma masiva y produce partículas virales que son excretadas por las deposiciones, en cantidad y duración variable.

Diagnóstico, prevención y tratamiento

El diagnóstico específico de la infección aguda se realiza mediante la detección del anticuerpo de clase IgM anti-HAV, el cual se presenta en el período de estado y persiste aproximadamente 2 a 4 meses; el anticuerpo anti-HAV de clase IgG persiste como marcador de inmunidad por años. El aislamiento del virus en deposiciones tiene muy poco rendimiento por la baja sensibilidad del método para

este virus y porque la mayor eliminación del virus por deposiciones se produce durante el período de incubación.

En relación a la prevención son fundamentales las medidas de saneamiento ambiental, la higiene personal, el tratamiento de aguas servidas y un buen sistema de eliminación de excretas. En la actualidad se dispone de vacuna inactivada comercial aprobada, cuyo uso en forma masiva está en discusión en Chile. No hay tratamiento antiviral efectivo.

VIRUS HEPATITIS B (HBV)

En 1965 se describe un antígeno (Ag) en el suero de pacientes leucémicos australianos (antígeno australiano), el cual fue posteriormente identificado como el antígeno de superficie del HBV. El HBV pertenece a la familia de los *Hepadnaviridae*; mide aproximadamente 42 nm, posee un DNA de 3.2 kpb. parcialmente bicatenario y proteínas capsulares que forman una nucleocápsula icosaédrica, que está envuelta por un manto.

En el HBV se reconocen 3 antígenos principales: el antígeno core (HBcAg), que forma la nucleocápsula viral y que se detecta fundamentalmente en el núcleo del hepatocito; el antígeno e (HBeAg), cuya detección en sangre indica replicación viral e infectividad; el antígeno de superficie (HBsAg), presente en la envoltura del virus. En el HBsAg se distinguen tres proteínas: S, preS1 y preS2. El HbsAg tiene un determinante de grupo común (a) y otros determinantes de subtipos de VHB (d, y, w, r), originándose diversas combinaciones, distribuidas en diferentes regiones del mundo. Las proteínas del manto están presentes en tres tipos de partículas observadas en el suero de pacientes infectados por el HBV: 1) esferas de 22 nm, 2) tubos de 20 nm de diámetro y 3) partículas de 42 nm que corresponden al virión y que originalmente se denominaron partículas de Dane. Las dos primeras son sólo partículas de material de envoltura que sale a la circulación, característico de los hepadnavirus (Figura 9-1).

El HBV replica en el núcleo de la célula, tiene la capacidad de integrarse al genoma celular y puede originar infecciones agudas, persistentes crónicas y transformantes.

Epidemiología y patogenia. La prevalencia de la hepatitis B varía en diferentes países, estableciéndose la existencia de países con tres niveles de portación crónica de HbsAg en la población: baja (<2%) como Chile y EEUU, con 0,1 - 0,6% de portadores crónicos; intermedia (2-7%), como India, Europa del Este; y alta (8-20%), como China o Japón. Se estima actualmente que el número de portadores crónicos del HBV en el mundo es sobre 350 millones de personas. Se considera que el HBV en 100 veces más infectivo que el HIV.

El virus se transmite fundamentalmente por tres vías: parenteral, venérea y vertical, siendo las dos últimas las de mayor relevancia. Las fuentes de infección

del VHB son los pacientes con infección aguda por hepatitis B y los portadores crónicos, aislándose el virus de la sangre, saliva, calostro, semen o secreción vaginal, heces y orina. El período de incubación de la infección es de 45 a 180 días. Esta infección es generalmente aguda y asintomática, pero puede persistir en forma crónica, por más de seis meses, en el 10% de los adultos y en más del 80% de los recién nacidos infectados. La evolución aguda fulminante es poco frecuente, del orden de 0.1% y hoy constituye una de las principales indicaciones de trasplante hepático. La infección persistente puede ser sintomática o subclínica. Algunos pacientes con infección persistente presentan una replicación viral activa (hepatitis crónica activa), con progresión del daño hepático y pueden desarrollar cirrosis hepática, pudiendo evolucionar posteriormente hacia un hepatocarcinoma.

El HBV puede generar tres tipos de interacción con la célula huésped: una interacción productiva con destrucción de la célula infectada por acción de la respuesta inmune celular (linfocito T citotóxico), originándose así el daño hepático y la erradicación del virus (infección aguda); una segunda interacción es la persistencia del virus en forma crónica sintomática o subclínica, de acuerdo al tipo de respuesta inmune celular; una tercera interacción es la transformación de la célula infectada con la inducción de un cáncer hepático primario.

Los anticuerpos (Ac) anti-HBcAg, primero de clase IgM y luego IgG, se detectan tempranamente. La aparición de Ac anti-HBeAg es una señal favorable de declinación de la replicación viral activa y de disminución de la infectividad; sin embargo, los verdaderos anticuerpos neutralizantes son los dirigidos contra la envoltura viral (Ac anti HbsAg). Estos permiten eliminar el virus circulante y se detectan al final del período de estado (4-6 semanas), pudiendo permanecer en circulación por años. La memoria inmune generada confiere protección permanente y es independiente del subtipo viral. Los Ac anti-HBcAg suelen permanecer más tiempo y aunque no son trascendentes para el adulto en la etapa tardía, su presencia como IgG (atravesada la placenta) protegería a los neonatos infectados del daño hepático producido por sus propios linfocitos citotóxicos. En estos casos, la concomitante inmadurez del sistema inmune favorece la persistencia viral.

Diagnóstico, prevención y tratamiento. Existen tres marcadores que se utilizan regularmente en el diagnóstico de la infección por este agente. La presencia de IgM anti- HBcAg es indicador de infección aguda o reciente, pues es positiva por alrededor de seis meses. La detección de HBsAg indica infección aguda en pacientes recientemente infectados o portación crónica, en pacientes cuyo cuadro clínico tiene más de 6 meses de evolución. La presencia de Ac IgG anti-HBsAg es signo de una infección anterior con erradicación del agente o vacunación previa (Figura 9-2) (Tabla 9-2). En caso de infección crónica puede ser de utilidad detectar ADN en sangre mediante PCR, como forma de control de tratamiento antiviral.

En relación a la prevención, es importante considerar el control a nivel de bancos de sangre, mediante el estudio de HBsAg en los donantes. También ha demostrado efectividad el uso de gammaglobulina hiperinmune en población

accidentalmente expuesta a HBV, en recién nacidos hijos de madres portadoras crónicas o que desarrollan una hepatitis B, especialmente en el tercer trimestre del embarazo, las cuales en más de un 70% transmiten el virus al recién nacido. Actualmente se dispone de una vacuna no infectiva desarrollada con ingeniería genética, en que el gen que codifica el HbsAg fue clonado en una levadura y luego producido masivamente el antígeno. La meta actual es incluir la vacunación universal anti hepatitis B – en dosis a los 0, 1 y 6 meses del inicio y posiblemente otra cada 10 años - en los programas rutinarios de vacunación, lo que se ha logrado en más de 80 países en el mundo. La vacuna debe ser administrada a todo recién nacido de madre infectada y al menos a los grupos de alto riesgo. En esa decisión influye el nivel de endemidad de la hepatitis B en el país. En relación al tratamiento, el uso de interferón alfa ha resultado ser efectivo en aproximadamente un 50% de los portadores crónicos.; también se ha ensayado uso de lamivudina.

VIRUS HEPATITIS C (HCV)

En 1975 se reconoció la existencia de un virus causante de hepatitis no-A no-B, transmitido a través de la sangre. El virus pertenece a la familia *Flaviviridae* y su tamaño aproximado es de 60 nm. Posee un RNA monocatenario de polaridad positiva, de 9.5 kb, una nucleocápsula icosaédrica (proteína C) y un manto (glicoproteínas E1 y E2). Es capaz de originar infecciones agudas y persistentes.

Epidemiología y patogenia. La prevalencia de la infección en Chile varía entre 0,2-0,4% en donantes de sangre. El mecanismo de transmisión muy similar al HBV, pues se transmite por vía parenteral, sexual y vertical. En este caso, la vía parenteral es la de mayor relevancia, constituyendo la principal causa de hepatitis postransfusional. La infección tiene un período de incubación de 15 a 110 días, y afecta principalmente a la población adulta debido a sus mecanismos de transmisión. Al igual que todos los virus hepatotropos, la infección aguda es fundamentalmente asintomática, pero más del 80% de los infectados queda como portador crónico del virus y clínicamente desarrolla hepatitis crónica. Después de muchos años algunos pacientes pueden sufrir cirrosis, un paso previo al desarrollo de cáncer hepatocelular.

Diagnóstico, prevención y tratamiento. La detección de anticuerpos anti-HCV es un indicador de infección por HCV. Es importante el control de los donadores a nivel de los bancos de sangre con el fin de pesquisar a los infectados y, así evitar la transmisión de este agente. En Chile se dispone del ensayo serológico en todos los bancos de sangre. Para definir la infectividad de un individuo seropositivo se utiliza la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), cuya sensibilidad cercana al 100% permite detectar la viremia desde la primera semana de infección. En relación al tratamiento, se ha probado el uso de ribavirina y de interferón alfa con resultados alentadores.

VIRUS HEPATITIS DELTA (HDV)

En 1977 se describió un nuevo antígeno en los hepatocitos de individuos infectados con HBV (el antígeno delta), el cual fue posteriormente reconocido como el HDV. De 36 nm. de diámetro, icosaédrico y RNA como genoma, se define como un virus defectivo, pues requiere la presencia previa o concomitante del HBV para su replicación y diseminación, debido al hecho de que su información genética sólo codifica para la proteína capsular. La envoltura, indispensable para que ocurra la infección, se la proporciona el HBV, lo que permite la adsorción del HDV al hepatocito. Este agente origina infecciones persistentes similares a las generadas por el HBV.

Epidemiología y patogenia. Este virus es prevalente en zonas endémicas del HBV, causando brotes epidémicos con una alta mortalidad. Los mecanismos de transmisión de este virus son similares a los del HBV. Su período de incubación es 30 a 50 días y tiene la capacidad de originar una infección persistente de tipo crónica. La capacidad patogénica de este agente depende de la existencia de infección previa con el HBV. Se pueden presentar dos situaciones: a) coinfección con el HBV, lo cual origina manifestaciones que no difieren de las originadas por la sola infección del HBV y b) superinfección con el HDV en un paciente infectado previamente con HBV, lo que origina un agravamiento de las manifestaciones agudas o crónicas. No existe una mayor frecuencia de hepatocarcinoma en pacientes con hepatitis crónica por HBV cuando se produce infección concomitante por HDV.

Diagnóstico, prevención y tratamiento. La presencia viral se determina a través de la detección del anticuerpo antiantígeno delta. La IgM aparece en la segunda a tercera semana del período de estado y se mantiene por años en individuos infectados crónicamente. La determinación de IgG anti-HDAg asegura la recuperación. En el tratamiento se ha usado interferón alfa con resultados alentadores.

VIRUS HEPATITIS E (HEV)

En relación a epidemias de hepatitis no-A no-B en ciertas zonas del mundo, se describe un virus de transmisión fecal-oral. Es un virus RNA monocatenario, sin manto y de un tamaño aproximado a los 27 nm; pertenece a la familia *Caliciviridae*. Sólo originaría infecciones agudas y no tendría capacidad de persistir en el individuo.

Epidemiología y patogenia. Se ha notificado un caso de hepatitis E en Chile, habiéndose informado de brotes en Perú y México. Es un virus de transmisión fecal-oral, asociado a una alta mortalidad en población de embarazadas (20%), sin que el mecanismo de acción esté dilucidado. Presenta un período de incubación de 45 días, acompañándose con frecuencia de cuadros colestásicos y a semejanza de la hepatitis A, no se le ha demostrado capacidad de originar infecciones persistentes ni transformantes.

Diagnóstico, prevención y tratamiento. Actualmente se dispone de algunas técnicas serológicas rápidas para el diagnóstico de infección por HEV. No se dispone de tratamiento específico. El saneamiento ambiental, al igual que en las infecciones por HAV, es la mejor medida de prevención.

VIRUS HEPATITIS G (HGV)

En 1995 dos grupos de investigadores independientes refieren el descubrimiento de un nuevo agente viral productor de hepatitis, al que se denomina HGV. Este es un virus RNA y pertenece a la familia *Flaviviridae*. Se transmite por vía sanguínea, tendría capacidad de establecer persistencia y en la actualidad su diagnóstico se realiza exclusivamente a través de la técnica de polimerasa en cadena (PCR).

CUESTIONARIO

1. ¿Clasificaría Ud. los virus hepatitis en de transmisión fecal oral y parenteral?
2. ¿Cuál es la hepatitis más frecuente en Chile, en qué grupo etario de la población se presenta?
3. ¿Cómo se establece el diagnóstico de una infección por el virus hepatitis A?
4. Mencione los tres principales marcadores virales del HBV y explique el significado que tiene la presencia de cada uno de ellos.
5. ¿Qué diferencia hay en la infección por HBV en el recién nacido y el adulto?
6. ¿Cómo se puede erradicar la infección por HBV?
7. ¿Cómo describe los tipos de portación de HBV y cuáles son sus pronósticos?
8. ¿En qué reside la importancia de la infección por HCV?
9. Haga un algoritmo de exámenes para estudiar una hepatitis en un adulto joven
10. ¿Qué virus provocan hepatitis agudas y cuáles pueden ser fulminantes?
11. ¿Qué medida existe para el control de la hepatitis C?
12. Mencione las medidas de prevención frente a cada una de las hepatitis virales.
13. ¿Existe tratamiento específico para los virus de las hepatitis?
14. ¿Para cuáles virus hepatitis se dispone de vacuna y de qué tipo?

INFECCIONES POR HERPESVIRUS HUMANOS

Los herpesvirus humanos pertenecen a la familia *Herpesviridae* (Tabla 1). Se caracterizan por tener un genoma DNA lineal de doble hebra, una cápsula icosaédrica rodeada por un tegumento proteico y un manto. Sus diámetros varían de 120 a 300 nm (Figura 1). Se encuentran ampliamente diseminados en el mundo y tienen la capacidad de establecer latencia en los individuos infectados. Todos los herpesvirus humanos replican en las células permisivas para cada uno de ellos y permanecen latentes en éstas u otras células. Durante la latencia, el DNA viral se encuentra en el interior del núcleo celular, pero no se detectan partículas virales; sin embargo, bajo ciertas condiciones, los virus nuevamente pueden replicarse, estableciendo una reactivación. Esta replicación en los órganos blanco puede ser asintomática, pero la excreción viral que se produce es igualmente infectiva para otro individuo. Por otra parte, los herpesvirus son capaces de evadir al sistema inmune por diversos mecanismos tales como permanecer latentes en células del SNC y del propio sistema inmune, expresar glicoproteínas en el manto que pueden ser receptor del fragmento Fc de las inmunoglobulinas y de C3b del complemento, disminuir la expresión del MHC-1 al unir la fracción B₂ microglobulina al interior de la célula infectada y fusionar membranas celulares, permitiendo su diseminación por contigüidad.

VIRUS HERPES SIMPLEX TIPO 1 (HSV-1)

Epidemiología y Patogenia

La infección por HSV-1 se adquiere generalmente durante la infancia. La seroprevalencia es mayor en grupos poblacionales de menor nivel socioeconómico y en países subdesarrollados. En Chile, la prevalencia en población adulta alcanza un 90%. La persona se infecta con el HSV-1 al tomar contacto con el virus presente en lesiones o secreciones de individuos enfermos o excretores asintomáticos. Principalmente infecta la piel y mucosa facial, aunque también puede dar manifestaciones genitales y del SNC (Tabla 2). El virus ingresa y se multiplica en la mucosa oral, generalmente sin que se exprese clínicamente la infección (asintomática en un 90%). Luego de la infección inicial en el epitelio, los virus contactan los terminales nerviosos sensitivos que inervan la zona y viajan por los axones hasta las neuronas ganglionares (trigémino), donde permanecen en estado de latencia. Frente a ciertos estímulos como LUV, stress, trauma local, fiebre, infecciones, etc. el HSV-1 se reactiva, volviendo por los axones hasta el sitio inicial de infección, (o cercano a éste) manifestándose como un herpes labial o sólo excretándose en forma asintomática por la saliva. Tanto la primoinfección como la recurrencia son infecciones localizadas, de tal forma que la viremia no participa en la producción de las manifestaciones cutáneas.

Clínica

Si bien la mayoría de las primoinfecciones son asintomáticas, las manifestaciones clínicas generalmente corresponden a una gingivoestomatitis herpética, la cual es más frecuente en niños de 1 a 5 años. El período de incubación varía de 2 a 20 días, tras lo cual se presenta fiebre, odinofagia y vesículas dolorosas en labios, encías, mucosa oral y porción anterior de lengua y paladar duro. Las lesiones son friables, se ulceran y pueden sangrar con facilidad. A veces se acompañan de adenopatías cervicales o submentonianas. El cuadro clínico dura 10 a 14 días y la excreción viral persiste hasta la resolución de las lesiones. Aunque la recurrencia herpética a nivel oral con frecuencia es asintomática, la manifestación clínica habitual es el herpes labial, el cual se inicia con dolor, ardor u hormigueo en la zona de recurrencia, horas previas a la aparición de las lesiones. Estas generalmente se ubican en el borde del bermellón del labio, pero también se observan recurrencias en mejillas, barba o nariz (periorificial). Las lesiones comienzan como pápulas agrupadas, que luego pasan a vesículas que se ulceran y se secan, con una resolución total en 5 a 7 días. Sin embargo, el virus no se excreta más allá de 3 días. Las infecciones recurrentes son clínicamente menos graves que la primoinfección, comprometiendo principalmente piel y no mucosa.

VIRUS HERPES SIMPLEX TIPO 2 (HSV-2)

Epidemiología y Patogenia

En países occidentales, el HSV-2 es la principal causa del herpes genital y del herpes neonatal. A nivel mundial, la prevalencia es cercana al 20%, siendo mayor en mujeres y aumentando notablemente en las edades de inicio de la actividad sexual. En nuestro país, se ha determinado una seroprevalencia del 14% en embarazadas y del 43% en pacientes atendidos en centros de enfermedades de transmisión sexual. Las primoinfecciones y las recurrencias genitales, en general, son asintomáticas, situación que explica el alto número de contagios que se producen anualmente y el riesgo de infección neonatal. La manifestación clínica de la primoinfección y de la recurrencia de la infección por HSV-2 corresponde al herpes genital. La infección se transmite por el contacto directo con lesiones o con secreciones infectadas. Luego de la replicación inicial en el epitelio, los virus contactan los terminales nerviosos sensitivos que inervan la zona y viajan por los axones hasta las neuronas ganglionares (sacro), donde permanecen en estado de latencia. Frente a ciertos estímulos como menstruación, trauma local, fiebre, infecciones, etc. el HSV-2 se reactiva, vuelve por los axones hasta el sitio inicial de infección, (o cercano a éste) y se excreta en la secreción vaginal o el semen, lo que a veces, se acompaña de manifestaciones clínicas. Al igual que el HSV-1, la primoinfección y la recurrencia son infecciones localizadas, sin participación de la viremia en la producción de las manifestaciones cutáneas.

El herpes neonatal se presenta en 1/2.500 a 1/5.000 partos en EE.UU. En el 85% de los casos, se adquiere en el momento del parto a través del contacto con el virus presente en las lesiones o secreciones genitales maternas. El riesgo de transmisión es mayor en la primoinfección (30%) que en una recurrencia genital materna (3%). Con menor frecuencia se contagian en el período postnatal (10%), por lesiones cutáneas maternas o del personal de salud (generalmente por HSV-1). En un bajo porcentaje (5%), el hijo se infecta en el útero.

Clínica

En el herpes genital, tras un período de incubación de 2- 20 días, se observan vesículas agrupadas o erosiones dolorosas sobre una base eritematosa, que se ulceran y luego cicatrizan lentamente. La primoinfección se presenta como una vulvovaginitis o balanitis, con múltiples lesiones que se pueden acompañar de compromiso del estado general, fiebre, adenopatías inguinales y cefalea. Las manifestaciones clínicas y la excreción viral duran 2 a 3 semanas. En las recurrencias, hay menos lesiones, más localizadas y desaparecen en 7 a 10 días, mientras que el virus no se excreta por más de 5 días.

Un 45% de los recién nacidos con herpes neonatal presentarán lesiones en piel, boca y/o ojos; un 35% presentará compromiso del sistema nervioso central y un 20% un herpes diseminado. Todos los niños que nacen infectados in útero presentan lesiones en la piel al momento de nacer, mientras que la mayor parte de los niños infectados al momento del parto desarrollarán lesiones dentro de la primera o segunda semana de vida. Las lesiones en piel son vesiculosas o ampollares, pero inicialmente pueden presentarse sólo úlceras orales o corneales.

Diagnóstico

El diagnóstico de laboratorio de infecciones por HSV-1 y HSV-2 se realiza a partir de muestras de lesiones activas cutáneas o mucosas, de secreciones, tejidos, sangre y LCR. La técnica de referencia es el aislamiento viral en cultivo celular, principalmente para muestras de lesiones de piel y mucosas. Su sensibilidad alcanza el 85% y su rendimiento dependerá de la precocidad y de la forma de toma y transporte de la muestra. Los aislamientos positivos deben ser confirmados con anticuerpos monoclonales que permiten identificar el virus. La PCR es la técnica diagnóstica de elección en patologías del SNC y en casos de lesiones antiguas o ya tratadas. La serología sólo es útil para estudios de seroprevalencia y para identificar a individuos susceptibles, ya que en las reactivaciones también se puede elevar la IgM. La mayoría de los ensayos comerciales presentan una alta reactividad cruzada entre HSV-1 y HSV-2, por lo que se deben utilizar técnicas que identifiquen IgG antiglicoproteína G del virus. Las técnicas rápidas de detección antigénica en frotis de lesiones o secreciones tienen menor rendimiento.

Tratamiento y profilaxis.

La droga de elección para el tratamiento de la infección herpética es el aciclovir (acv). Otros antivirales como valaciclovir y famciclovir también son utilizados, presentando ventajas en su biodisponibilidad oral y su dosificación. Sólo el famciclovir en crema ha demostrado ser útil en lesiones cutáneas. Existen aislados de cepas resistentes al acv en inmunocomprometidos, en quienes se puede utilizar el foscarnet o el cidofovir en crema. No existe una vacuna contra la infección por HSV-1. Se estudia una vacuna anti HSV-2, para el control del herpes genital y la prevención del herpes neonatal.

VIRUS VARICELLA-ZOSTER (VZV)

Epidemiología y Patogenia

El virus varicella-zoster es el agente causal de la varicela y del herpes zoster, patologías que representan la primoinfección y la reactivación de VZV, respectivamente. La varicela es una enfermedad generalizada, altamente contagiosa y de curso benigno en la infancia. Se presenta generalmente en menores de 10 años, a fines del invierno e inicio de la primavera. En nuestro país, el 10% de los adultos permanece susceptible a la infección. Esta se adquiere desde un individuo con varicela o herpes zoster. El virus ingresa por vía respiratoria, multiplicándose en la mucosa del aparato respiratorio. Luego origina una viremia primaria, llegando al sistema retículo endotelial y luego una viremia secundaria con la cual alcanza sus órganos blanco (piel, SNC y pulmones). A partir de las lesiones en piel, el VZV ingresa a los terminales nerviosos sensitivos y establece latencia en neuronas y células satélites de ganglios que inervan la zona.

Clínica

La varicela tiene un período de incubación de 11 a 21 días. Se manifiesta con fiebre moderada, malestar general, mialgias y lesiones maculoeritematosas que progresan a vesículas y luego a costra, comenzando en el cuero cabelludo y tronco y diseminándose a las extremidades proximales. Es característico que se observen lesiones en diferentes estadíos simultáneamente, progresando en 6 a 12 h una vesícula a costra (Erupción polimorfa). Las costras desaparecen en 5 días a 4 semanas. En las mucosas se presentan úlceras, secundarias a la rápida rotura de vesículas. El paciente es contagioso desde 2 días antes hasta 5 días después de iniciada la erupción, o hasta que todas las lesiones formen costra. Las posibles complicaciones son: sobreinfección de lesiones por *Streptococcus* B hemolítico grupo A (fasciitis necrotizante), infección viral del sistema nervioso central y neumonitis varicelatosas. La varicela es una enfermedad de elevada morbi-mortalidad en niños mayores e inmunocomprometidos, especialmente leucémicos y con inmunodeficiencia severa. En estos pacientes a la varicela progresiva se asocian: septicemia bacteriana, neumonitis, encefalitis y hepatitis, varicela hemorrágica, varicela crónica (lesiones hiperqueratósicas), síndromes

recurrentes de varicela, síndromes de reinfección, síndrome de necrosis retinal aguda y leucoencefalitis multifocal.

En la embarazada, la varicela puede tener un curso agresivo y en el 1-2% de ellas el virus se transmite al hijo por vía transplacentaria (varicela congénita). Si bien este riesgo es mayor durante el 1er trimestre del embarazo, se han descrito casos de infección congénita durante el 2º semestre, e incluso, a partir de un herpes zoster materno. Los recién nacidos presentan una erupción a veces hemorrágica y duradera, cicatrices en las extremidades o en dermatomas, hipoplasia de extremidades inferiores, microcefalia y a nivel ocular, catarata, corioretinitis y micro-oftalmia que pueden causar ceguera. Otra situación de riesgo es la varicela que se presenta en una embarazada desde 4 días antes hasta 2 días después del nacimiento. Como el recién nacido no posee anticuerpos maternos protectores, entre los 5 a 10 días después de nacer, puede desarrollar una varicela neonatal grave, e incluso, morir por el daño viral a nivel pulmonar y del sistema nervioso central.

En general, el herpes zoster se presenta en mayores de 60 años que previamente se infectaron con varicela. En esto influiría la disminución natural de la inmunidad celular con la edad; sin embargo, el número de niños con herpes zoster es cada vez mayor. En ellos se debieran estudiar posibles cuadros de inmunosupresión (ej. leucemia). El herpes zoster se inicia con parestesia, prurito o dolor en un dermatoma, 1 a 3 días antes de que se presenten las lesiones vesiculosas sobre un fondo eritematoso, de iguales características clínicas a las descritas en la varicela, pero circunscritas. Las vesículas se forman en 2 a 5 días y en 2 a 3 semanas evolucionan a pústulas y costras. Con frecuencia se observa compromiso del nervio trigémino en su rama oftálmica, o de T3 o L4. La mayor dificultad del herpes zoster es el manejo de la neuralgia post herpética (NPH).

Diagnóstico

El diagnóstico de la varicela y del herpes zoster generalmente es clínico. En situaciones particulares que requieran de estudio de laboratorio, se puede realizar aislamiento viral en cultivo celular del contenido vesicular (el efecto citopático se observa a los 7 días y la muestra debe ser reciente), detección de antígenos virales mediante IF (generalmente como técnica de confirmación del aislamiento viral) o PCR (técnica rápida y muy sensible). La detección de anticuerpos específicos (serología) por IF o ELISA es útil para descartar la susceptibilidad, por ejemplo, en una embarazada.

Tratamiento y profilaxis.

El tratamiento de las infecciones graves por VZV se realiza con aciclovir. La Academia Americana de Pediatría establece tratamiento de la varicela en mayores de 12 años, en los 2º y 3er contactos intrafamiliares y en inmunocomprometidos, por la gravedad asociada a este cuadro. En algunos países está disponible la gammaglobulina hiperinmune (VZIG) para el tratamiento de pacientes inmunocomprometidos, embarazadas, recién nacidos y

prematuros expuestos a la infección. La droga de elección en el tratamiento del herpes zoster es el valaciclovir oral.

La vacuna antivariçela, desarrollada en Japón y administrada desde 1987, es una vacuna a virus atenuado. En EE.UU. está indicada su administración en niños entre 12 y 18 meses de edad y en nuestro país se recomienda a todos los mayores de 12 años susceptibles. También se administra a niños inmunosuprimidos seronegativos y en remisión de su patología inmunosupresora, con lo que se disminuye el porcentaje de niños con herpes zoster en relación a los no inmunizados.

CITOMEGALOVIRUS

Epidemiología y Patogenia

A nivel mundial, el CMV es la causa más importante de infección congénita (1% de los recién nacidos), una de las principales infecciones transmitidas por transfusiones y una causa frecuente de morbi-mortalidad en pacientes transplantados e inmunocomprometidos. Esta infección está ampliamente distribuida en el mundo, con seroprevalencias mayores en niveles socioeconómicos bajos y en países en desarrollo. En Chile, entre el 60% y el 90% de la población adulta es seropositivo. Generalmente el virus se adquiere a temprana edad en la población de nivel socioeconómico bajo. La probabilidad de infectarse aumenta en forma significativa al ingresar a salas cunas y jardines infantiles. La transmisión es por contacto con secreciones orofaríngeas, orina, secreciones vaginales, semen, leche materna, lágrimas, heces y sangre. La infección por este virus es sistémica, se multiplica prácticamente en todos los órganos y se excreta en todas las secreciones corporales. El daño celular es por acción directa de la replicación viral y de la respuesta inmune, generando células gigantes (por eso su nombre), redondeamiento celular e inclusiones intranucleares. El CMV permanece latente en células renales, en células de las glándulas salivales y en polimorfonucleares de sangre periférica. Existe sólo un serotipo, pero hay cepas distintas que pueden determinar reinfecciones.

Clínica

La infección primaria y la reactivación generalmente son asintomáticas. A veces, en los adolescentes y adultos, la primoinfección se manifiesta como un síndrome mononucleósico.

El 1-4% de las embarazadas susceptibles desarrolla una primoinfección por CMV y el 5-15% de las embarazadas seropositivas tienen recurrencias. Si bien en ambas situaciones se puede infectar el hijo, es más probable la transmisión y de mayor gravedad para el recién nacido la adquirida durante una primoinfección, pues aunque los anticuerpos maternos no evitan la infección del niño, sí lo protegen del desarrollo de una infección citomegálica grave. El virus puede llegar al feto por vía transplacentaria o por ascensión desde el cérvix materno (infección

congénita). También puede adquirirlo durante el parto (infección natal), al pasar por un canal vaginal infectado o durante el período posnatal, a través de la leche materna

El 85% de los niños con infección congénita no presenta síntomas al nacer. En los sintomáticos, las manifestaciones clínicas comprenden un amplio espectro incluyendo retardo del crecimiento intrauterino, hepatoesplenomegalia, púrpura trombocitopénica, ictericia, microcefalia y/o retinitis. Los recién nacidos infectados pueden desarrollar secuelas de grado variable, tales como retardo mental, pérdida de la audición sensorineural y alteraciones visuales. En general, el daño es más frecuente y mayor en los niños que presentan síntomas al nacer.

En los inmunocomprometidos, la infección es frecuente y de gravedad: cerca del 50% de los trasplantados renales se primoinfecta con CMV y en un 85% de ellos recurre el virus. Las infecciones primarias son más graves, pudiendo causar el rechazo del órgano trasplantado. En los enfermos de SIDA, este virus se puede diseminar y comprometer diferentes órganos del aparato gastrointestinal, respiratorio y de la retina (coriorretinitis).

Durante la infección por CMV, la IgM aparece tempranamente y se mantiene por un mínimo de 12 semanas, mientras que la IgG es detectada entre el primero y segundo mes de infección. La respuesta inmune del feto infectado durante el embarazo es similar, manteniéndose la IgM positiva durante varias semanas después del parto y detectándose IgG generada por el recién nacido, al mismo tiempo que disminuye la IgG materna. La respuesta inmune humoral ante una infección natal o posnatal temprana se detecta entre las 4 a 18 semanas postinfección.

Diagnóstico

El diagnóstico de la infección por CMV se realiza mediante el aislamiento del virus en cultivos celulares, a partir de secreciones o tejidos. En la actualidad, el aislamiento viral rápido (shell vial), que incluye la centrifugación del cultivo y la detección de antígenos virales por IFI, permite detectar la presencia del virus en 24 horas. Una técnica cuantitativa es la antigenemia, en la cual la detección de la proteína pp65 del tegumento viral en neutrófilos de sangre periférica indica **replicación** del CMV. Es de gran utilidad en cuadros sistémicos graves y en el seguimiento del tratamiento antiviral. La PCR es una técnica rápida, muy sensible y, según la metodología aplicada, cualitativa o cuantitativa. En la PCR convencional, la detección del DNA viral indica **infección** por CMV, pero no distingue entre latencia y replicación viral, a diferencia de una PCR cuantitativa, en la cual una carga viral elevada reflejaría replicación viral. La detección de Ac específicos (serología) es útil en estudios de seroprevalencia y en la identificación de primoinfecciones. La IgM se detecta en las infecciones primarias, pero también puede estar presente en las reactivaciones.

El diagnóstico de infección congénita por CMV debe realizarse dentro de las primeras 2 semanas de vida, para diferenciarla de una infección natal o postnatal. Es de elección el aislamiento viral rápido de saliva y/u orina del recién nacido. Una alternativa sensible, pero de alto costo es la PCR. La detección de IgM presenta algunas dificultades como falsos positivos; así mismo, la ausencia de este anticuerpo no descarta la infección, porque pueden desaparecer cuando la infección ha sido muy precoz durante el embarazo. La antigenemia tiene baja sensibilidad en recién nacidos.

Tratamiento y profilaxis.

Las enfermedades graves por CMV, incluyendo la enfermedad citomegálica en el recién nacido, se tratan con ganciclovir. El valganciclovir tiene mejor biodisponibilidad oral. En los recién nacidos e inmunocomprometidos seronegativos que requieren transfusión de derivados sanguíneos, se recomienda utilizar sangre de dador seronegativo para CMV o la administración específica de hemoderivados sin leucocitos. Actualmente se ensayan diferentes vacunas anti CMV.

VIRUS EPSTEIN-BARR

Epidemiología y Patogenia

El EBV debe su nombre a dos de sus descubridores. Está ampliamente distribuido en la población mundial, adquiriéndose habitualmente a temprana edad en países en desarrollo y durante la adolescencia en países desarrollados. La incidencia varía según las áreas geográficas consideradas, desconociéndose la prevalencia en nuestro país.

En el manto de este virus se encuentra una glicoproteína única, contra la cual se dirige gran parte de la respuesta inmune. Se han identificado dos tipos (EBV-1 y EBV-2), con gran homología genética, observándose con mayor frecuencia el EBV-1 en el continente europeo y americano. El EBV es causante de la mononucleosis infecciosa (MNI) y también se asocia a cuadros poco frecuentes como linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo y leucoplaquia velluda.

El EBV ingresa por el *orofarinx*, replica en la mucosa oral y glándulas salivales, infectando rápidamente a los linfocitos B (LB) utilizando el receptor CD21, que también es el receptor de la fracción C3b del complemento. El desarrollo de esta infección implica un estímulo para la proliferación celular y el establecimiento de un estado de persistencia viral.

Durante su ciclo replicativo expresa 3 tipos de antígenos: los antígenos tempranos (EA: *early antigen*), que pueden indicar el inicio de la replicación productiva; los antígenos tardíos de cápsula (VCA: *viral capsid antigen*) y los antígenos nucleares de fase latente (EBNA: *Epstein-Barr nuclear antigen*).

En los niños, la primoinfección puede cursar en forma asintomática o presentarse como una faringitis leve. En el adulto joven se presenta como MNI en prácticamente la mitad de los casos. Las manifestaciones clínicas más relevantes se deben a la respuesta inmune contra los LB infectados. La mayor parte de los individuos infectados excretan el virus por la saliva durante semanas o meses, en forma continua o intermitente. El virus puede reactivarse desde los LB infectados por diferentes estímulos que activen a estos linfocitos.

Diagnóstico virológico.

El diagnóstico de las infecciones por EBV se realiza básicamente a través de ensayos serológicos. Se pueden detectar anticuerpos heterófilos, que reaccionan con glóbulos rojos de cordero (reacción de Paul-Bunnell) y anticuerpos anti-EBV, especialmente anti antígeno de la cápsula viral (IgG e IgM), como se muestra en la Tabla 3. La detección de anticuerpos anti-EA es de baja sensibilidad.

También es posible realizar exámenes de detección del DNA (hibridación, PCR) y aislamiento viral en cultivo celular, pero estas técnicas están restringidas a laboratorios de alta especialización.

Tratamiento y profilaxis.

En forma aislada se han tratado casos de MNI grave con terapias combinadas de aciclovir y corticoides, obteniéndose buenos resultados clínicos. También se han ensayado la inmunoglobulina, el interferón alfa y el aciclovir en diferentes esquemas terapéuticos. No existe vacuna contra el EBV.

VIRUS HERPES HUMANO 6

Epidemiología y Patogenia

En 1986 se identificó en leucocitos de sangre periférica el HHV-6. Existen dos tipos, A y B, este último asociado al exantema súbito, por lo que se clasificó en un nuevo género, *Roseolovirus*. Es un virus ampliamente distribuido en la población mundial y se adquiere a temprana edad, por el contacto con saliva infectada. Es linfotrópico (infecta LTCD4), pero se ha detectado en múltiples tejidos y secreciones del organismo, incluyendo la sangre. Puede haber transmisión intrauterina.

La seroprevalencia en adultos es alta, encontrándose los mayores títulos en pacientes con infecciones por EBV o CMV y en pacientes con el síndrome de fatiga crónica (probablemente por reactivación viral). La mayoría de los recién

nacidos son seropositivos al nacer, pero estos anticuerpos transmitidos por vía transplacentaria desaparecen a los 6 meses de vida. Posteriormente se infectan con el virus, de tal forma que a los 2 años, prácticamente todos tienen anticuerpos específicos para el HHV- 6.

Clínica

Generalmente la infección es asintomática. En los niños es la causa del exantema súbito, un cuadro de fiebre alta, pudiendo llegar a 40°C, de 3-5 días de duración, y en quienes, el descenso de la fiebre se acompaña de la aparición súbita de un exantema en el 30% de los casos. Este exantema macular o maculopapular, se inicia en el tronco para después diseminarse a las extremidades y a la cara. Puede acompañarse de adenopatías cervicales, de esplenomegalia y de compromiso del SNC ocasionando convulsiones. La recuperación es completa, aunque hay casos de hepatitis fulminante. También se ha detectado en LCR de niños con meningoencefalitis aséptica. En adultos se ha asociado al síndrome de fatiga crónica y mononucleosis infecciosa y en inmunosuprimidos puede comprometer gravemente distintos órganos, entre ellos la médula ósea, causando fiebre, leucopenia, exantema, encefalitis y neumonitis. Puede potenciar los efectos del CMV en trasplantados de órganos sólidos y aumentar la replicación del VIH.

Los niños que adquieren la infección durante la gestación pueden presentar secuelas neurológicas.

Diagnóstico

En general, sólo se requiere en inmunocomprometidos. El aislamiento viral es la técnica de referencia, y se realiza cocultivando células mononucleares de sangre periférica con linfocitos de cordón umbilical. También es posible detectar anticuerpos específicos como IgG mediante IFI o ELISA y amplificar el DNA viral por PCR.

Tratamiento y profilaxis.

El tratamiento sería necesario en la población de inmunocomprometidos y, aunque el ganciclovir y el foscarnet han mostrado actividad contra el HHV- 6 *in vitro*, no se ha demostrado su eficacia clínica. No se dispone de vacuna.

VIRUS HERPES HUMANO 7

Epidemiología, patogenia y clínica

En 1990, se aisló el HHV- 7 de linfocitos T CD4 activos en sangre periférica y hasta ahora se han identificado 5 cepas. Al igual que HHV-6, se encontraría ampliamente diseminado en la población general, elevándose la seroprevalencia de la población (60-80%) cerca de los 2 años de edad. Se ha relacionado con numerosas patologías como el exantema súbito, la mononucleosis infecciosa y el síndrome de fatiga crónica, pero su papel no está claro.

Siendo su principal sitio de replicación la glándula salival, generalmente se transmite por la saliva. Existe interferencia recíproca con el HIV ya que ambos virus utilizan el receptor CD4 para infectar LT. Recientemente se ha comprobado que puede infectar monocitos-macrófagos CD68. Se ha detectado en individuos sanos en altos niveles en pulmón, piel y glándula mamaria, y en baja cantidad en hígado, riñón y amígdalas. Esto indicaría que además de establecer latencia en células mononucleares de sangre periférica, el virus permanecería en forma persistente en tejidos.

Al igual que HHV-6, el HHV-7 es un patógeno emergente en población de inmunocomprometidos, principalmente en pacientes transplantados y con SIDA.

Diagnóstico

Las principales herramientas diagnósticas son la detección del DNA viral mediante PCR y la detección de Ac específicos utilizando células infectadas. Estos presentan reacción cruzada con antígenos del HHV-6, por lo que se están desarrollando reactivos serológicos más específicos. Se puede aislar el virus de saliva y linfocitos de sangre periférica.

Tratamiento y profilaxis.

No existen tratamientos ni vacuna de eficacia comprobada para este virus.

VIRUS HERPES HUMANO 8

Epidemiología y Patogenia

El virus herpes humano 8 (HHV-8) fue denominado inicialmente como virus herpes asociado a sarcoma de Kaposi (KSHV), debido a que, en 1994, se detectó originalmente en pacientes con SIDA que presentaban esta patología. Posteriormente, se ha detectado en todos los subtipos clínico-epidemiológicos de la enfermedad - sarcoma de Kaposi clásico y endémico, lesiones neoplásicas epiteliales de pacientes trasplantados - y se han obtenido evidencias de su rol causal. También se ha asociado a carcinomas de células escamosas y basales en pacientes transplantados con tratamiento inmunosupresor, pero no está confirmada su participación.

Este virus infecta a células endoteliales, linfocitos T y, principalmente, linfocitos B. En las lesiones del Sarcoma de Kaposi se observa proliferación de células

endoteliales, angiogénesis que estaría inducida por citoquinas y factores de crecimiento. Este virus, el único agente humano del género *Rhadinovirus*, contiene secuencias genómicas que codifican para: compuestos semejantes a las interleuquinas (IL 6 viral), análogos de receptores de interleuquinas, quimioquinas, enzimas antagonistas del complemento y un homólogo de la proteína inhibidora de la apoptosis bcl-2. Otros factores participarían en el desarrollo de este sarcoma como la coinfección por el HIV, el cual *in vitro* estimula la replicación del HHV- 8.

Al parecer este virus no se encuentra ampliamente diseminado en la población general, habiéndose detectado anticuerpos específicos en el 9,5% de donantes de sangre, en el 34% de pacientes con SIDA y sin sarcoma de Kaposi y en el 85% de pacientes con ambas patologías. Hay evidencias de su transmisión sexual (detección en paciente homosexual no SIDA), pero sólo se ha detectado virus en la saliva.

Clínica

El sarcoma de Kaposi es una neoplasia vascular maligna. Se caracteriza por la aparición de lesiones nodulares violáceas, de rápida evolución, principalmente en piernas y cara. En las formas agresivas, se desarrolla una enfermedad generalizada que afecta a mucosas, ganglios, glándulas salivales, entre otros.

Diagnóstico

Se realiza por detección de anticuerpos por ELISA o IF en cultivos celulares infectados y por Western blot. El aumento de los títulos de anticuerpos se asocia a progresión de la enfermedad. La PCR a partir de tejidos es una alternativa.

Tratamiento y profilaxis.

No se dispone de antivirales ni de vacuna. El mejor tratamiento del sarcoma de Kaposi es la reconstitución del sistema inmune del paciente, como se ha observado con el uso de la terapia antiretroviral HAART en seropositivos para HIV.

Tabla 1. CLASIFICACIÓN DE LOS HERPESVIRUS HUMANOS

<u>NOMBRE DESIGNADO</u>	<u>NOMBRE COMÚN</u>
Virus herpes humano 1	Herpes simplex 1 (HSV-1) Herpes simplex 2
Virus herpes humano 2	(HSV- 2) Varicella- zoster

Virus herpes humano 3		(VZV)
Virus herpes humano 4	Epstein- Barr	(EBV)
Virus herpes humano 5	Citomegalovirus	(CMV)
Virus herpes humano 6		(HHV-6)
Virus herpes humano 7		(HHV-7)
Virus herpes humano 8		(HHV-8)

Tabla 2.
MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA INFECCIÓN POR HERPESVIRUS

<u>Familia Herpesviridae</u>	<u>Manifestaciones clínicas.</u>
Virus herpes simplex 1	Gingivoestomatitis aguda Herpes labial Blefaritis Eczema herpético Panadizo herpético Herpes en zona del pañal Encefalitis herpética
Virus herpes simplex 2	Herpes genital Herpes neonatal Encefalitis herpética
Virus varicella-zoster	Varicela Herpes zoster Varicela neonatal Síndrome varicela congénita
Citomegalovirus	Citomegalovirus congénito Síndrome mononucleósico
Virus Epstein-Barr	Mononucleosis infecciosa (exantema en el 10%)
Virus herpes humano 6 B	Exantema súbito
Virus herpes humano 7	Exantema súbito

TABLA 3. REACTIVIDAD DE ANTICUERPOS ANTI VIRUS EPSTEIN-BARR.

<u>SEROLOGÍA</u>	<u>INFECCIÓN PRIMARIA</u>	<u>REACTIVACIÓN</u>	<u>INFECCIÓN CRÓNICA</u>
Anti-VCA IgM	+	+	-
Anti-VCA IgG	++	++	+
Anti-EBNA	-	-+	+

Bibliografía

1. Galla S. and Levy M. Viral and Fungal Skin Infections. Feigin R. and Cherry J. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. W.B. Saunders Company. 1998, Cap. 70: 753-774.
2. Beutner K. Human Papillomavirus and Human Disease. Am J Med. 1997. 102(5A): 9-15.
3. Tyring S. Introduction: Perspectives on Human Papillomavirus Infection. Am J Med. 1997. 102(5A): 1-2.
4. Slade H, Owens M, Tomai M, Miller R. Imiquimod, crema al 5% (Aldara TM). Exp. Opin. Invest. Drugs. 1998; (7) 3: 437-449.
5. Grose C. Varicella Infection During Pregnancy. HERPES. 1999; 6(2): 33-37.
6. Sandström E. And Whitley R. The Increasing Importance of Cytomegalovirus, Epstein-Barr virus and Human Herpesviruses Types 6, 7 and 8. Recommendations from the IHMF Management Strategies Workshop and 3rd Annual Meeting. 1996. PPS Europe Ltd. And The University of Alabama School of Medicine: 5-28.
7. Kroon S and Sköldenberg B. Herpes Simplex Virus Infections. Whitley R. Diagnosis of Herpesvirus Infections. Recommendations from the IHMF Management Strategies Workshop. 1994. PPS Europe Ltd. And The University of Alabama School of Medicine: 5-13.
8. Balfour H and Wood M. Varicella Zoster Virus Infections. Whitley R. Diagnosis of Herpesvirus Infections. Recommendations from the IHMF Management Strategies Workshop. 1994. PPS Europe Ltd. And The University of Alabama School of Medicine: 14-16.
9. Griffiths P and Spector S. Citomegalovirus Infections. Whitley R. Diagnosis of Herpesvirus Infections. Recommendations from the IHMF Management

- Strategies Workshop.1994. PPS Europe Ltd. And The University of Alabama School of Medicine:20-26.
10. Kroon S and Wood MJ.Management of Varicella.Recomendations from the IHMF Management Strategies Workshop and 3rd Annual Meeting.1996 PPS Europe Ltd. And The University of Alabama School of Medicine:5-34.
 11. Leach C.Human herpesvirus-6 and-7 infections in children: agents of roseola and other syndromes. Current Opinion in Pediatrics.2000;12:269-274.
 12. Drago F, Ranieri E, Malaguti F, Battifoglio ML, Losi E and Rebora A.Human herpesvirus 7 in patients with pityriasis rosea.Electron microscopy investigations and polymerase chain reaction in mononuclear cells, plasma and skin.Dermatology.1997;195(4):374-8.
 13. Kempf W, Adams V, Kleinhans M, Burg G, Panizzon RG, Campadelli-Fiume G. et al. Pityriasis rosea is not associated with human herpesvirus 7. Arch Dermatol.1999;135(9):1070-2.
 14. Hall C, Caserta M.Exanthem Subitum (Roseola Infantum).HERPES.6(3):64-67.
 15. Stefan A, Menotti L, Campadelli-Fiume G.The Biology of Natural History of Two Emerging Pathogens:Human Herpesviruses 6 and 7.HERPES.6(3):78-81.
 16. Wu E. Infección por VIH en niños.Sepúlveda C, Afani A. SIDA.Publicaciones Técnicas Mediterráneo Ltda.1997.Cap.29:417-434.
 17. Hurtado C. Serología de la infección por VIH. Sepúlveda C, Afani A. SIDA.Publicaciones Técnicas Mediterráneo Ltda.1997.Cap.6:95-112.
 18. Afani A.Inmunopatogenia de la infección por VIH. Sepúlveda C, Afani A. SIDA.Publicaciones Técnicas Mediterráneo Ltda.1997.Cap.4:54-77.
 19. Conant MA and Wood MJ.Herpesviruses as Opportunistic Infections in VIH-Infected Children. Recommendations from the IHMF Management Strategies Workshop and 2rd Annual Meeting.1996.PPS Europe Ltd. And The University of Alabama School of Medicine:30-40.
 20. Moferson L.Human Retroviruses.Feigin R, Cherry J.Textbook of Pediatric Infectious Diseases.W.B.Saunders Company.1998:2169-2213.
 21. Cherry J, Nielsen K, Vargas J. Hepatitis B and D viruses. Feigin R, Cherry J.Textbook of Pediatric Infectious Diseases.W.B.Saunders Company.1998:1685-1698.

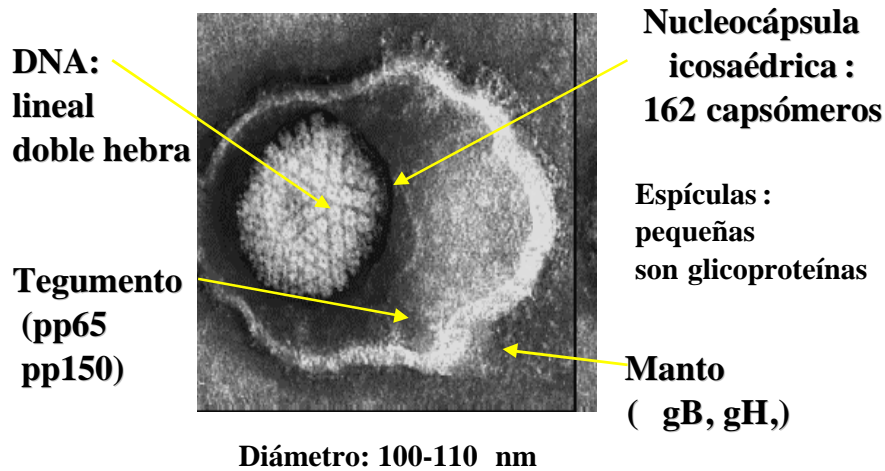
CUESTIONARIO

1. Mencione los miembros de la familia *Herpesviridae*.
2. ¿Qué característica biológica comparten los miembros de esta familia?
3. ¿Cuáles son los mecanismos que utilizan para evadir el sistema inmune del individuo?
4. ¿En qué células y órganos permanecen latentes los herpesvirus?

5. ¿Cuál es la función que cumple el sistema inmune (humoral y celular) frente a la persistencia y reactivación viral?
6. ¿Cuáles son las poblaciones de alto riesgo, susceptibles de manifestar una infección por los herpesvirus?
7. ¿Qué mecanismo patogénico da cuenta de las reactivaciones virales herpéticas en un individuo?
8. La inmunidad materna frente a los herpesvirus, ¿evita la infección congénita? ¿por qué?
9. ¿Qué muestras se deben tomar para realizar el diagnóstico de una infección congénita por un herpesvirus?
10. ¿Las primoinfecciones por el virus herpes simplex siempre son asintomáticas? ¿Cuáles son las posibles manifestaciones clínicas?
11. ¿Cómo se diagnostican los herpesvirus?
12. ¿Qué tratamientos existen para las infecciones por los herpesvirus?
13. ¿Qué población se pretende proteger al utilizar la vacuna contra el VVZ?

FIGURA 1.

HERPESVIRUS



VIRUS Y CANCER

Ciertas infecciones virales se han asociado con algunos tipos de cánceres en el ser humano. Algunos de estos cánceres son relativamente comunes, estableciéndose que prácticamente un 20% del total de los cánceres humanos, a nivel mundial, tiene una etiología viral. Por ejemplo, el desarrollo del cáncer cérvico uterino se relaciona con infecciones por ciertos tipos genéticos de los virus papiloma humanos (HPV), presentándose en todo el mundo, pero con diferentes frecuencias en los diversos países.

La distribución geográfica particular de algunos cánceres se puede explicar en base a las infecciones endémicas de algunos de estos agentes virales, como ocurre con las infecciones por el virus de la hepatitis B (HBV) y el desarrollo de hepatomas. Los dos tipos de cánceres asociados a infecciones por virus Epstein Barr (EBV), el linfoma de Burkitt y el carcinoma nasofaríngeo, también se presentan en regiones de alta incidencia de infección por este agente, como son el África Central y China, respectivamente. Sin embargo, se sabe que las infecciones por HBV y EBV son ubicuas y frecuentes, por lo que se asume que otros factores, presentes preferencialmente en el área geográfica de alta incidencia para el tipo de cáncer asociado, contribuyen en la oncogénesis. También existe una estrecha relación entre infecciones por los retrovirus de leucemias de células T (HTLV) y el desarrollo de este tipo de leucemias en algunas islas de Japón y el Caribe.

Estas asociaciones de infecciones virales con ciertos tipos de cánceres derivan de diversos estudios en los que se ha podido demostrar las siguientes relaciones:

- 1.- Las infecciones por estos virus preceden a las neoplasias.
- 2.- A mayor prevalencia de la infección viral, mayor incidencia de cáncer.
- 3.- La epidemiología de estas infecciones virales es similar a la epidemiología del tipo de cáncer relacionado.
- 4.- Los estudios seroepidemiológicos muestran que los pacientes con estos tipos de cánceres suelen tener niveles de anticuerpos mayores que las personas de grupos controles.
- 5.- En las células de los tejidos tumorales suele detectarse DNA y/o proteínas o antígenos propios del virus.
- 6.- Estos virus, o algunos de sus genes, son capaces de transformar células normales en tumorales o de inducir el desarrollo de tumores en animales.

Mecanismos moleculares y celulares de las transformaciones virales

Los virus pueden inducir cáncer por dos tipos de mecanismos, directos e indirectos. El mecanismo directo básico es la integración total o parcial de un genoma viral en el ADN de una célula, que actuaría como verdaderos “oncogen” en alguna etapa del proceso oncogénico. El indirecto propone la participación viral en la promoción o estabilización del crecimiento celular en una población previamente transformada o alterada genéticamente.

Oncogenes virales. Algunos virus poseen un gen especial – oncogen o gen onc – que es capaz de conferir carácter de malignidad a las células que infecta. Se les han denominado según el tumor que inducen (Ej. src por sarcoma), y seguramente quedan muchos por descubrir. El sarcoma de Rous ilustra el mecanismo que opera en los retrovirus. El virus con genoma ARN se adsorbe a la célula, penetra y el ARN de simple hebra es transcrito a ADN de doble hebra por una ADN polimerasa ARN dependiente, la transcriptasa reversa. Se forma un ADN viral que se integra al ADN celular como “provirus”. Este provirus tiene tres destinos posibles: a) quedar latente en el genoma, persistiendo sin manifestarse b) ser transcrito a ARNm por la polimerasa celular y seguir el ciclo replicativo con producción de progenie viral y c) activarse el oncogen y transcribirse a un ARNm que producirá una proteína que promueva la transformación celular, que a su vez por expansión clonal origine un tumor.

Oncogenes celulares. Se ha descubierto que muchas células de aves, peces y mamíferos son portadoras de genes que equivalen al oncogen src, pues generan una proteína-quinasa semejante. Al parecer muchos otros oncogenes tienen su contraparte génica en las células del hospedero (proto-oncogen , c-onc) que se habrían adquirido durante la evolución. Diferentes estímulos podrían activar estos c-onc, como inserciones de genes virales, radiaciones, mutaciones, etc. y resultar en transformación celular

Mecanismos indirectos. Se han descrito otras alteraciones que contribuyen a la asociación entre virus y cáncer, como la regeneración celular secundaria a la cirrosis, observadas en infecciones por virus hepatitis B y C. Como el sistema inmune se encarga de vigilar la aparición de células anormales, cualquier infección que afecte los órganos del sistema inmune puede favorecer la emergencia de tumores. El mejor ejemplo es el VIH, que se discute en el capítulo correspondiente. Otros mecanismos indirectos están representados por infecciones concomitantes, factores dietético, hormonales, etc. En la Tabla1 se muestra la asociación entre virus, cáncer humano y cofactores posiblemente involucrados

A pesar de compartir idéntico patrimonio genético, las células de los diversos tejidos de un mismo individuo muestran importantes diferencias tanto morfológicas como fisiológicas. Esto se debe al hecho de que dependiendo de las funciones que debe cumplir un determinado tejido, el patrón de expresión de los genes es distinto en un órgano u otro. En este contexto podemos situar también lo que se refiere a la capacidad de división celular: algunas células están programadas para estar continuamente en mitosis (por ejemplo las células de la base de la epidermis en la piel) y otras están absolutamente “detenidas” en el ciclo celular (*quiescentes*, por ejemplo, las fibras musculares). Por otro lado, la fisiología de algunos tejidos implica también la eliminación de algunas células, proceso conocido como muerte celular programada o *apoptosis*. Así, es fácil comprender que en cada célula existen: 1) genes que codifican proteínas pro-mitóticas; 2) genes que codifican proteínas “supresoras” de la mitosis; y 3) genes que conducen a la muerte celular. En las células de división continua la “balanza de la expresión” está más inclinada por los primeros y en las células que no dividen se imponen los segundos. Debido a una cuestión histórica, por la manera en que fueron identificados, los genes supresores de la mitosis son conocidos como *supresores de tumor*.

El fenómeno que conocemos como cáncer se refiere precisamente a un desequilibrio en la balanza fisiológica entre las funciones pro-mitóticas y las supresoras de mitosis. Desde un punto de vista molecular, existe un consenso que la pérdida del control de la división celular (proceso conocido como *transformación*) es un fenómeno de origen multifactorial, donde varios eventos moleculares dirigen a la célula a la división continua

descontrolada. Si bien la fisiología celular ha permitido que dichos fenómenos sean estadísticamente raros, cuando ocurre se hace evidente porque todas las células “hijas” de una célula transformada también comparten el fenotipo de transformación, por lo que la formación de un tejido tumoral es sólo cosa de tiempo.

Diversos factores pueden promover la transformación celular. Evidentemente, el más simple es la modificación (mutación, eliminación o desregulación) de un gen regulador de la balanza mitótica (por ejemplo, mutación de un gen supresor de la mitosis). Debido al potencial desregulador de la mitosis que tienen dichos genes celulares (cuando sufren alguna modificación), se los ha denominado como proto-oncogenes. Así, todos los agentes mutágenos (radiación UV, algunos agentes químicos, etc...) tienen un potencial cancerígeno *per se*, pues pueden alterar proto-oncogenes, disparando su potencial oncogénico. Además, como la replicación del DNA es un proceso muy fiel pero no perfecto, se puede estimar que las células que están continuamente replicando su DNA son más susceptibles a sufrir una transformación (por mutaciones accidentales de proto-oncogenes) que las células quiescentes.

La capacidad transformante de algunos virus ha sido estudiada precisamente en el contexto de como alteran la homeostasis celular, particularmente afectando el equilibrio mitótico de la célula hospedera. Algunos de los mecanismos transformantes de los virus se pueden clasificar de la siguiente manera:

Mutación de los genes del hospedero. Algunos virus, como parte de su ciclo de replicación, realizan un proceso de *integración* de su genoma, es decir, el genoma viral en la forma de ADN de doble hebra (dsDNA) es insertado en algún lugar del ADN de un cromosoma de la célula hospedera. Dicho proceso de integración puede ocurrir en el locus particular de un gen involucrado en la regulación del ciclo celular (un proto-oncogen). Así, si por la inserción del genoma viral se interrumpe un gen supresor de tumor, no se producirá proteína supresora de tumor y la célula estará desequilibrada en su ciclo celular pudiendo gatillar una transformación celular. Por otro lado, algunos genomas virales también son portadores de secuencias activadoras, por lo que si ocurre una integración justo antes de un gen celular pro-mitótico, el aumento en los niveles de la proteína pro-mitótica también podrá provocar cambios en la regulación del ciclo celular.

El ejemplo más ilustrativo de oncogénesis por inserción lo representan algunos retrovirus como los virus de la leucosis aviar (ALV), el virus de tumores mamarios de ratón (MMTV) y el virus de la leucemia murina (MLV). En el caso del ALV, por ejemplo, se han detectado en los tumores inserciones transformantes en el gen *c-myc* (el prefijo “c” para indicar que es la copia celular del gen *myc*) que aumentan los niveles de la proteína Myc, un regulador pro-mitótico. Algunos retrovirus humanos tal como el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y el virus de la leucemia de células T (HTLV) tienen otros mecanismos transformantes (descritos más abajo), pero su potencial transformador debido a su integración tampoco puede ser descartado.

Otro importante ejemplo de tumorigénesis viral por mutación del genoma del hospedero es el caso del linfoma de Burkitt, en donde, asociado a la infección por el virus Epstein-Barr (EBV), se han encontrado translocaciones entre los cromosomas 8 y 14 que conducen a la alteración del gen *c-myc*. Dichas translocaciones no dependen de interacciones directas con el genoma viral, pues el EBV no integra su material genético al genoma del hospedero.

Transformación por genes análogos. Algunos retrovirus son portadores de genes que presentan una analogía significativa a genes celulares involucrados en la regulación del ciclo celular, es decir, oncogenes virales análogos a proto-oncogenes celulares. Usualmente, los oncogenes virales promueven la transformación celular por dos mecanismos: por un lado, un exceso de proteína puede promover un desbalance del equilibrio mitótico y por otro lado si la proteína viral es defectiva o disfuncional, al competir con su análogo celular inhibe el funcionamiento adecuado de los procesos de regulación del ciclo. Mas allá de su potencial transformador (favoreciendo la propagación viral con la multiplicación celular), los oncogenes virales no son indispensables para el ciclo replicativo del virus.

El virus del sarcoma de Rous incluye en su genoma un gen *v-src* (“v” por copia viral del gen *src*). La proteína Src celular (codificada por el gen *c-src*) es una quinasa dependiente de fosforilación involucrada en la activación de genes pro-mitóticos. La proteína viral es una versión no-dependiente de fosforilación, por lo tanto esta constantemente activando la proliferación celular, de ahí su potencial oncogénico. Otros oncogenes codificados por retrovirus son análogos a diversos tipos de proteínas celulares tales como factores de crecimiento, receptores hormonales, factores de transcripción, etc...

Un caso muy interesante es el del virus herpes del sarcoma de Kaposi (KSHV) que incluye un gran número de oncogenes análogos a genes celulares que terminan afectando la homeostasis celular y promoviendo la transformación: *v-IL6* (pro-inflamatoria), *v-Bcl2* (que compite con *c-Bcl2*, por lo tanto inhibiendo la apoptosis), *v-CYC* (análoga a diversas ciclinas reguladoras del ciclo celular), etc...

Transformación no genética. Si bien usualmente la aparición de un tumor se asocia con mutaciones en el genoma de la célula, dicho evento no es una condición indispensable para la transformación. En el caso de la mayoría de los virus con genoma ADN, durante el proceso de infección se altera la fisiología celular por interacciones directas de proteínas virales con las proteínas celulares que regulan la mitosis. Los ejemplos más importantes de proteínas celulares involucradas en este tipo de transformación son las proteínas p53 y Rb (de retinoblastoma), ambas supresoras de tumores.

Por ejemplo, los virus papiloma codifican tres proteínas con potencial oncogénico: E5, E6 y E7. Se ha podido demostrar que E6 secuestra a la proteína p53 y por lo tanto elimina su función supresora de tumor, lo que promueve la tumorigénesis. De la misma manera, E7 interactúa con Rb. Tal es la correlación entre la disfunción de p53 y Rb con el desarrollo del cáncer cérvico-uterino, que de la casi totalidad de muestras de este tipo de cáncer analizado una de las dos condiciones se cumple: o existen mutaciones en p53 y/o Rb o entonces existe una infección por virus papiloma humano (HPV) usualmente de tipo 16 o 18.

Otro ejemplo de proteína viral transformadora es el de la proteína Tax del virus de la leucemia de células T (HTLV). Esta proteína, esencial en el ciclo replicativo del virus, interactúa con varios factores de transcripción celular que afectan la expresión de genes (nótese: cambio de expresión, no mutación!) involucrados en la regulación de la mitosis, tales como CREB/ATF y NF- κ B.

Inmunosupresión. La aparición de células transformadas no es un evento extremadamente raro durante la vida de un individuo. Sin embargo, dichas transformaciones son controladas por el sistema inmunológico (particularmente por células T citotóxicas) que

detecta algunos marcadores de superficie en las células con división descontrolada. Dicha función controladora del sistema inmunológico se ve alterada durante la infección por virus que afectan a células del sistema inmunológico. Así, pacientes que sufren de SIDA son más susceptibles a sufrir diversas neoplasias. Sin embargo, es importante enfatizar una vez más el carácter multifactorial de la transformación celular, en donde la “permissividad” de un sistema inmunológico deficiente es un elemento más en la pérdida de la regulación mitótica.

HEPATITIS B Y CARCINOMA HEPATOCELULAR.

La infección por el virus de la hepatitis B (HBV) presenta un rango de manifestaciones muy amplio, que abarca desde la ausencia de síntomas hasta la hepatitis crónica. El HBV es un virus pequeño, que tiene envoltura y en cuyo DNA se encuentran 4 genes virales que codifican para más de un producto proteico. El gen S codifica para 3 proteínas relacionadas con el antígeno de superficie del virus; el gen C codifica para las proteínas de la cápsula o *core*; el gen P contiene la información genética para la DNA polimerasa viral, y el gen X codifica para una proteína de regulación que interactúa con elementos tanto virales como celulares.

El HBV parece ser el principal determinante en el desarrollo de carcinoma hepatocelular en las áreas endémicas para este virus; sin embargo, sería necesaria la presencia de un cofactor, la aflatoxina B, la cual está asociada con mutaciones que inactivan a la proteína supresora de tumor p53. El alcohol y otros agentes tóxicos que promueven el daño hepático crónico, al igual que las hormonas sexuales, podrían contribuir también como cofactores. El desarrollo tumoral suele ocurrir varios años después de establecida la condición de cronicidad de la infección viral y, por lo tanto, la hepatitis crónica se considera un verdadero factor de riesgo para el carcinoma hepático. Se desconoce cómo participa la enfermedad crónica en este proceso y se considera que el continuo nivel de daño hepatocelular que conduce a la hiperplasia, constituye una situación de riesgo por la aumentada velocidad de mutación.

En la mayoría de los casos de hepatomas asociados a infecciones por el HBV, el DNA viral se encuentra integrado al genoma celular. Esta integración es un evento temprano de la infección viral y se postula que el sitio de integración del genoma viral sería crucial en el desarrollo de la neoplasia. Dos características de la integración serían claves:

a) La integración es un proceso dinámico y al azar, como se deduce de los estudios de biología molecular. El DNA viral puede ejercer un efecto regulatorio de tipo *cis*, es decir, en los genes celulares vecinos, los que pueden activarse por acción de los promotores y *enhancers* virales (estimuladores de la transcripción) o por supresión, a través de la ruptura de controles o secuencias codificadoras provocadas por la integración del genoma viral.

b) Reordenamiento del DNA viral que conduce a menudo a la expresión de productos génicos o proteínas modificadas que pueden ser funcionalmente

diferentes a las proteínas silvestres, como es el caso de pX y la generación de proteínas S truncadas. Estas proteínas son muy importantes en la regulación de tipo trans (acción sobre genes ajenos y en otras localizaciones), pudiendo provocar, por lo tanto, alteraciones regulatorias en los genes celulares. Recientemente se ha demostrado que la proteína pX del HBV se puede unir a la proteína p53, impidiendo que ésta actúe en el control proliferativo celular como lo hace normalmente.

El conocimiento de estas complejas interacciones entre los genes virales y celulares es fundamental para la comprensión de la transformación maligna del HBV.

VIRUS EPSTEIN-BARR Y LINFOMA DE BURKITT

El EBV se ha asociado con el linfoma de Burkitt y el carcinoma nasofaríngeo en base a antecedentes de tipo epidemiológico, inmunológico y virológico. El EBV es responsable de infecciones ubicuas y se encuentra prácticamente en el 100% de la población mundial, aun en poblaciones de alto nivel de higiene. Las infecciones dentro del primer año de vida son propias de los países en desarrollo; en cambio las infecciones en la adolescencia, generalmente acompañadas por los signos característicos de la mononucleosis infecciosa, corresponden a países altamente industrializados. Este virus permanece en las personas infectadas de por vida y su excreción viral explica la alta transmisibilidad.

El EBV se asoció primeramente con el linfoma de Burkitt debido al aislamiento del virus en cultivos de linfocitos B de un paciente con este linfoma y también por los altos niveles de anticuerpos anti EBV presentes en los pacientes, en comparación con los controles. También se ha podido detectar DNA de EBV en células de linfoma de Burkitt que no producen virus. La demostración de la existencia de antígenos virales específicos en las células de estos linfomas y en aquellas transformadas por EBV, apoyan también el postulado de que el EBV sería el agente etiológico más importante. Sin embargo, a pesar de los años transcurridos desde el inicio de estos hallazgos, el mecanismo oncogénico del EBV permanece desconocido, no pudiendo explicarse la ausencia de los marcadores virales en los linfomas correspondientes a los casos esporádicos de los linfomas de este tipo.

Aunque no se han identificado en forma precisa los genes de transformación de EBV, los genes EBNA 1 y 2 y el correspondiente a la proteína latente de membrana (LMP), serían los más relevantes en el proceso oncogénico. Recientemente se ha podido establecer que en la membrana citoplasmática de las células transformadas por el EBV se expresa en forma constitutiva la proteína LMP-1, que actúa como un receptor de factor de crecimiento permanentemente activado.

Otro hallazgo importante en los linfomas de Burkitt, independientemente de la participación viral, es la translocación cromosómica que involucra a los genes de las inmunoglobulinas y del protooncogen *c-myc*, del cromosoma 8 al 14. Estas translocaciones resultan en la alteración de la regulación de *c-myc* y en un aumento de la transcripción de los alelos modificados y la autosupresión del *locus c-myc* no

afectado. Este tipo de reordenamiento genético, junto con la observación de que ratones transgénicos (ratones genéticamente modificados a partir de su ovocito) para el reordenamiento de *c-myc* desarrollan hiperplasias de células B, señalan la importancia de estos eventos en el desarrollo del linfoma de Burkitt.

VIRUS PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER CÉRVICO UTERINO

El cáncer cérvico uterino se considera una enfermedad de transmisión sexual en base a antecedentes epidemiológicos. Se han realizado diversos tipos de estudios para identificar el agente infeccioso responsable de esta patología. Durante varios años se sospechó del virus herpes simplex tipo 2 (HSV-2), o herpes genital, como responsable de este cáncer y se acumularon evidencias en este sentido. Sin embargo, en los últimos años se ha podido conocer que ciertos tipos genéticos de virus papiloma humano (HPV), designados como 16 y 18, serían los principales responsables, puesto que el 90% de los cánceres del cuello uterino corresponden a infecciones por HPV de estos tipos genéticos.

Los HPV pertenecen a la familia *Papovaviridae*. Son agentes de pequeño tamaño y su genoma (DNA) contiene 8.000 pares de bases, con aproximadamente 9 genes que llevan la información para proteínas estructurales (genes L1 y L2) y proteínas no estructurales (genes E1 a E7). Los diferentes tipos genéticos comparten la organización genética y la similitud de algunas de sus proteínas. Estos virus infectan a sus hospederos naturales produciendo generalmente lesiones proliferativas como las verrugas.

La infección genital por HPV ocurre a nivel del epitelio del cuello uterino y depende del estado de diferenciación celular, lo que evidencia la acción de factores celulares en el curso de la infección viral. La replicación viral puede observarse en los estratos basales, mientras que la producción de partículas virales completas ocurre en los superficiales. Al infectar el tejido mucoso, generalmente se produce binucleación y células con un gran halo perinuclear (coilocitos).

No se conocen los factores que condicionan la transformación celular que involucra la integración de los genomas virales en el DNA celular. En las lesiones benignas y precancerosas se detectan frecuentemente los genomas virales de los genotipos 6, 11, 16 y 18 en forma episomal; en cambio, en los tumores sólo se detectan genomas de los tipos 16 y 18, integrados y amplificados. La integración del genoma viral implica una interrupción en el gen E2 de los HPV, lo que conduce a una alteración de los mecanismos regulatorios de la replicación viral. En las células transformadas o tumorales se expresan los oncogenes virales E6 y E7. El mecanismo por el cual estos genes virales participan en la oncogénesis está relacionado con la propiedad que tienen sus productos proteicos de formar complejos e inactivar varias proteínas celulares. La proteína del gen E7 es capaz de unirse a la proteína del retinoblastoma Rb, y el E6 se une a la proteína p53. Tanto Rb como p53 corresponden a proteínas supresoras de tumor, cuya función normal es regular negativamente la proliferación celular y cuya pérdida está relacionada con

el desarrollo de tumores. La capacidad de los HPV de alto riesgo oncogénico para interferir con la función normal de p53, es altamente significativa para la actividad oncogénica, ya que se considera que las mutaciones en p53 constituyen el evento más común detectado en la mayoría de los cánceres humanos. Es así, que la expresión de los genes E6 y E7 en las células del cuello uterino podría tener un efecto similar a las mutaciones en los genes supresores Rb y p53. Esto se correlaciona bastante bien con la baja frecuencia de mutaciones en estos genes en los tumores de cuello uterino que contienen genomas del HPV.

VIRUS HTLV Y LEUCEMIAS DE CÉLULAS T

Las evidencias que asocian al HTLV-I con las leucemias de células T del adulto son bastante sólidas. La prevalencia de las infecciones por HTLV-I es muy baja a nivel mundial (0,25%); existen zonas de alta prevalencia, como algunas islas del Japón y el Caribe (30%), que corresponden a las áreas donde este tipo de leucemia aguda se presenta. Aunque la infección por HTLV-I parece ser necesaria para el desarrollo de la leucemia de células T, la probabilidad de que una persona infectada por HTLV-I desarrolle este cáncer es de sólo 2%, siendo la mayor parte de las infecciones por HTLV-I de carácter asintomático.

A este virus también se le ha atribuido un papel etiológico en la paraparesia espástica, patología frecuente en las áreas endémicas de la infección por este agente.

El virus puede transmitirse de madre a hijo a través de los linfocitos infectados presentes en la leche. En los adultos, la vía de transmisión más frecuente sería la sexual, por los linfocitos infectados presentes en el semen. Este retrovirus fundamentalmente infecta a los linfocitos T CD4 positivos que desempeñan funciones regulatorias sobre los linfocitos B, participan en la expansión de los linfocitos T citotóxicos y en la activación de los macrófagos. En un portador asintomático del virus, alrededor del 1-2% de los linfocitos periféricos se encuentran infectados y en los pacientes con paraparesia espástica, alcanza hasta un 10% de la población de estos linfocitos. Esta situación es considerablemente diferente a lo observado en las infecciones por EBV, en que el número de linfocitos infectados en los portadores asintomáticos es considerablemente bajo. Durante la infección viral, el HTLV-I integra su material genético en el DNA celular, no existiendo un sitio único o preferencial en la integración y se desconoce el mecanismo de integración. A diferencia del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), que también infecta a los linfocitos T, en lugar de destruir los linfocitos, el HTLV-1 los estimula a proliferar en forma descontrolada.

El genoma viral posee la organización de un retrovirus con los genes gag, pol, env, y otros genes adicionales, designados como pX, que codifican para varias proteínas, algunas de ellas con importantes funciones regulatorias. La transformación celular es mediada por estos genes virales, que activan la transcripción de genes celulares que participan en el control de la proliferación celular. Estos virus poseen un gen tat, que permite la activación de la transcripción

celular de la misma manera que lo hacen los virus tumorales. Se postula que la transformación ocurre por activación de *tat* sobre los genes de control proliferativo de los linfocitos T, los que al aumentar su actividad mitótica y estar expuestos a cambios genéticos adicionales, podrían activar a protooncogenes como *c-myc* y otros.

A semejanza de otros virus con potencial oncogénico, la infección viral precede al desarrollo de la leucemia por largos períodos de tiempo (20-30 años) y esto, sumado al hecho de que sólo un pequeño porcentaje de las personas infectadas desarrollan la leucemia, hace suponer que en el intermedio se producen alteraciones en el DNA celular, producto de la acumulación de mutaciones, que junto con la infección viral dan origen a la aparición de clones de células malignas. Se pueden reconocer algunos estados premalignos, diferentes en su grado de clonalidad, en el aumento del recuento linfocitario, en la clonalidad u oligoclonalidad del sitio de integración de HTLV-I en los linfocitos y en las características clínicas (lesiones en la piel). En el estado pre-leucemia se puede detectar un sitio de integración monoclonal del genoma viral y una elevación del recuento linfocitario. En las células leucémicas es posible observar varias translocaciones cromosómicas, pero ninguna que sea única.

Por lo tanto, la participación más relevante del HTLV-I en el desarrollo de las leucemias de células T, corresponde a la expansión del conjunto de linfocitos en replicación que están siendo controlados por el sistema inmune y que por adquisición de mutaciones se hacen malignos, desconociéndose aún si el genoma viral desempeña una función directa en el desarrollo final y en la mantención del tumor.

ONCOGÉNESIS VIRAL Y PREVENCIÓN DEL CÁNCER

La carcinogénesis viral plantea el problema de identificar al virus tumoral; si este agente es un elemento fundamental en el desarrollo de la enfermedad, medidas preventivas como el uso de vacunas podrían controlar la infección y, por ende, el cáncer. Esta situación parece cumplirse en las infecciones por el HBV, para el cual se dispone de una vacuna efectiva y segura, aunque de alto costo. La inmunización rutinaria de niños y jóvenes en las regiones de alta incidencia de infección por este virus, pretende controlar la enfermedad; sin embargo, los resultados sólo se podrán apreciar en algunos años más, debido al largo período que demora la aparición del hepatocarcinoma.

La inmunización profiláctica para prevenir infecciones por EBV, HPV y HTLV-I está en estudio y aún no existen evidencias de la eficacia de estas vacunas. Otro enfoque de control se basa en la inmunización terapéutica. También se ha considerado el uso de drogas destinadas a bloquear específicamente a las oncoproteínas virales, aunque no se

conozca su mecanismo de acción. Es interesante considerar el bloqueo de las funciones de las proteínas E6 y E7 en los cánceres de cuello uterino, así como el uso de terapias génicas e inmunes que consideren la expresión de funciones de EBV y HTLV-I que permitan actuar como marcadores o blancos celulares.

CUESTIONARIO

1. ¿Qué tipo de argumentos epidemiológicos y clínicos permiten asociar algunas infecciones virales con ciertos cánceres humanos?
2. Explique qué tipos de mecanismos explican la asociación entre virus y cáncer
3. Explique cómo ciertos virus transforman células normales en tumorales
4. ¿Es suficiente la infección viral para el desarrollo de un cáncer?
5. ¿Cómo infecciones por el virus de la hepatitis B pueden determinar el desarrollo de hepatomas?
6. ¿Cómo se explica la asociación entre hepatoma y virus de la hepatitis C?
7. ¿Qué evidencias asocian al linfoma de Burkitt con el virus Epstein- Barr?. Comente la función y utilidad de proteínas o antígenos del virus Epstein- Barr en el linfoma de Burkitt.
8. ¿Qué genotipos de virus papiloma humano (HPV) se relacionan con el cáncer cérvicouterino y por qué? ¿Qué hecho importante se observa a nivel genómico en las células tumorales por HPV?
9. ¿Qué HPV se relaciona con cáncer a la piel? Comente esta asociación.
10. Comente el riesgo que tienen los enfermos de SIDA de presentar cáncer.
11. Explique el mecanismo por el cual los HTLV participarían en las leucemias de células T.
12. Mediante dos ejemplos, comente medicas concretas relevantes en el control de ciertos cánceres relacionados con infecciones virales.

TABLA 4-1. VIRUS Y CÁNCER HUMANO

<u>VIRUS</u>	<u>CÁNCER</u>	<u>COFACTOR</u>
Hepatitis B	Carcinoma hepatocelular	Aflatoxina, alcohol, cigarrillo
Epstein-Barr	Linfoma de Burkitt Carcinoma nasofaríngeo	Malaria, HLA, nitrosaminas
Herpes Humano 8	Sarcoma de Kaposi	?
Papilomavirus HPV 16 y 18 HPV 5, 8 y 17	Cáncer cérvicouterino Cáncer a la piel	Cigarrillo Alteración genética, luz solar
Retrovirus HTLV-I	Leucemia células T, Linfoma	?
HTLV-II	Leucemia células peludas	?

BIBLIOGRAFÍA

1. Collier L, Oxford J. Viruses and cancer in humans. En: Collier L, Oxford J. Human Virology. Oxford: Oxford University Press, 2000: 49 - 56
2. Ojeda JM, Prado R, Dabancens A. Infecciones genitales por virus papiloma. Rev Chil Infectol 1992; 9 (2) : 64-70.

3. Vousden KH, Farrel PJ. Viruses and human cancer. Br Medical Bull 1994; 50 (3): 560-81.

4. Zur Hausen. Viruses and human cancer. Science 1991; 254 (5035) 1167-73.

VIRUS Y SISTEMA NERVIOSO

Infecciones virales del sistema nervioso

El sistema nervioso (SN), central (SNC) y periférico (SNP), es susceptible a un gran número de agentes infecciosos, los que pueden afectar al tejido nervioso y sus envolturas. Las infecciones virales pueden comprometer al SN durante el curso de una enfermedad generalizada (ej.: sarampión, varicela) o afectarlo primariamente, como en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, en la cual el tejido nervioso es el órgano blanco.

Los virus que infectan al SN pueden agruparse en 2 categorías: los llamados virus convencionales (ej.: herpes), que poseen una estructura y organización molecular conocida y los agentes no convencionales (ej.: Kuru), que corresponden a agentes infectivos con naturaleza molecular aún no bien definida.

Algunos aspectos patogénicos destacados en virus que afectan al SN son:

Puertas de entrada y vías de diseminación. La infección del SN puede ser adquirida: directamente, por traumatismos o procedimientos clínicos directos sobre este sistema, como la punción lumbar y la cirugía (iatrogenia); por continuidad, a través de la diseminación de una infección primaria de localización contigua al SN (mastoiditis, sinusitis, mielomeningocele infectado, etc); por vía sanguínea, mecanismo de diseminación más común, donde el virus replica en la puerta de entrada (mucosa respiratoria, genital, digestiva, etc., pasa a la sangre (viremia) y por vía hematógena alcanza a distintos órganos o exclusivamente al SN, y por vía neural, tras replicarse en la puerta de entrada, el virus utiliza el axón de las células nerviosas periféricas como vía de diseminación para llegar al SNC (ej.: virus herpes simplex y virus rábico).

Lesiones en órganos blancos. El daño que producen los virus en el SN obedece tanto a la acción directa que ejercen los virus sobre las células nerviosas y estructuras adyacentes que infectan, dependiendo del ciclo de replicación viral, como también al producido por mecanismos indirectos, como son la respuesta inflamatoria e inmunológica que desarrolla el huésped, con la destrucción de las células que expresan antígenos virales en su superficie.

De acuerdo al mecanismo de daño que predomine y la localización de la infección en el SN se reconocerán diversos síndromes clínicos. La mayoría de los virus que afectan al SN son capaces de infectar diferentes tipos celulares a la vez (por ejemplo: virus herpes simplex, enterovirus no-polio, virus parotiditis, etc.). Esto se traduce, en clínica, en que un mismo virus puede producir compromiso encefálico y meníngeo simultáneamente (meningoencefalitis). Otros muestran una alta especificidad en cuanto a su tropismo celular, como el virus polio que infecta neuronas motoras y el virus rábico que lesiona neuronas del sistema límbico.

Síndromes y manifestaciones clínicas. Las manifestaciones clínicas de las infecciones virales del SN dependen de la naturaleza del agente viral, su tropismo celular y la respuesta del individuo a la infección viral. Las enfermedades del SN causadas por virus pueden presentar una evolución aguda, subaguda o crónica, y se pueden clasificar en 3 grupos: infecciones agudas, síndromes agudos postexposición viral e infecciones lentas del SN por virus convencionales y no-convencionales.

INFECCIONES AGUDAS DEL SNC

Son las que se describen a continuación. En la Tabla 1 se resumen algunas características de estas infecciones.

Meningitis viral. Corresponde a la inflamación de las meninges y del espacio subaracnoideo producida por algún virus. En general, son infecciones benignas, con baja mortalidad, autolimitadas y dejan pocas secuelas. A diferencia de las meningitis bacterianas, que producen una inflamación con predominio de neutrófilos, los virus que infectan las meninges producen meningitis linfocíticas agudas. De curso menos grave que las infecciones bacterianas, se caracterizan por síntomas como fiebre, cefalea, vómitos, rigidez de nuca y compromiso de conciencia variable. El estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR) muestra un líquido de aspecto claro, pleiocitosis linfocítica leve a moderada, elevación de proteínas y glucorraquia normal.

En Chile, uno de los agentes causales más frecuente de meningitis viral solía ser el virus de la parotiditis (paperas), donde llegaba por vía hematogena (viremia).. El paciente mostraba antecedentes de paperas recientes conjuntamente con la meningitis, o bien, se constataba un brote epidémico en la comunidad. En Chile, los brotes epidémicos de paperas predominaban en primavera. La infección es autolimitada y en general tiene una evolución benigna. En ocasiones el compromiso puede extenderse al encéfalo y manifestarse como una meningoencefalitis, de pronóstico más reservado, o bien, producir secuelas como hipoacusia (sordera). Para su prevención se dispone de vacuna viva atenuada, que en nuestro país se administra desde 1990 junto con las vacunas de sarampión y rubéola.

Algunos enterovirus son también causa frecuente de infecciones del SN, especialmente meningitis. Los enterovirus pertenecen a la familia *Picornaviridae*, la cual está constituida por diferentes géneros, como *Enterovirus*, *Rhinovirus*, *Hepatovirus* y otros. Los enterovirus pueden alcanzar al SN, especialmente los virus polio, que tienen un tropismo por este tejido. Después de replicar en el tracto digestivo y llegar al SN, la diseminación de la infección se realiza por vía neural. La replicación viral a nivel neuronal produce necrosis.

Los enterovirus producen cuadros clínicos diferentes según el órgano blanco que invadan, que van desde formas clínicas asintomáticas a cuadros febriles inespecíficos o enfermedad severa con parálisis. Como característica general, los enterovirus pueden producir diferentes cuadros clínicos; a su vez, un síndrome clínico puede ser producido por distintos enterovirus (Tabla 2).

El diagnóstico de las infecciones por enterovirus se puede realizar mediante aislamiento viral a partir de muestras de deposiciones, aspirado faríngeo, LCR, sangre, lesiones mucocutáneas vesiculosas, etc. Cuando aparece ECP, que se caracteriza por la presencia de células redondas y pequeñas y la aparición de lisis celular, el cultivo es sometido a pruebas confirmatorias con anticuerpos específicos. Otro método de diagnóstico es la serología, aunque resulta complicada en la práctica diaria, dado el alto número de serotipos de enterovirus. En la actualidad, en algunos laboratorios se dispone de técnicas rápidas de diagnóstico, como PCR, que permiten confirmar la etiología en plazo de horas.

Encefalitis viral. El SNC puede ser infectado por diversos virus que producen enfermedades graves, a menudo de mal pronóstico. A diferencia de otros países, en Chile no se han detectado arbovirus, que producen frecuentemente encefalitis. En esta patología, la infección compromete principalmente a la sustancia gris y el mecanismo de daño es directo. Los síntomas y signos más frecuentes son fiebre, compromiso de conciencia (desde excitación hasta coma), signos focalizados o generalizados de daño neuronal y convulsiones. Muchas veces coexisten signos de encefalitis con meningitis, lo que se

denomina meningoencefalitis. Los virus que con mayor frecuencia producen encefalitis en Chile son: enterovirus, herpes simplex tipo 1, parotiditis y, muy raramente el virus rábico. La encefalitis herpética es principalmente producida por el virus herpes simplex tipo 1 y es la causa más frecuente de encefalitis esporádica en el adulto joven; en EEUU corresponde al 10% de todas las encefalitis.

La encefalitis por virus herpes simplex puede ser el resultado de la reactivación de una infección latente de un virus que se encuentra en neuronas de pares craneanos, habitualmente nervio trigémino, con progresión retrógrada del virus a lo largo de nervios tentoriales. Con menor frecuencia, la encefalitis puede ocurrir por una primoinfección o reinfección exógena por este virus, el que ingresa por vía olfatoria. La infección por herpes tipo 1 a nivel del SNC determina necrosis de las células infectadas y la lesión se localiza de manera característica en los lóbulos frontotemporales, lo que en clínica se traduce en cambios de conducta y compromiso oscilante de conciencia.

En los recién nacidos la encefalitis herpética se debe principalmente al virus herpes simplex tipo 2 (genital). En este caso el recién nacido generalmente adquiere la infección al pasar por el canal del parto infectado con este virus. La infección del SNC es consecuencia de una forma generalizada de infección, que puede incluir compromiso mucocutáneo o la infección de otras vísceras. En los adultos, en cambio, la infección por herpes tipo 2 produce meningitis, la cual es una complicación neurológica poco frecuente.

La infección herpética del SNC, especialmente la encefalitis, tiene una mortalidad superior al 70% y el 50% de los pacientes que sobrevive queda con graves secuelas si no reciben un tratamiento específico y oportuno. El diagnóstico de certeza de infección herpética a nivel del SNC se realizaba mediante biopsia cerebral, puesto que el aislamiento viral a partir de muestras de LCR tiene una sensibilidad inferior al 10%. Con el advenimiento de nuevas técnicas, como la reacción en cadena de la polimerasa, se puede confirmar rápidamente la etiología en la mayoría de los casos con un simple estudio del LCR.

El tratamiento de las infecciones del SNC por herpes simplex es con aciclovir en altas dosis, vía endovenosa.

La rabia es una zoonosis que puede ser transmitida al hombre a través de la saliva, por la mordedura de animales infectados. El virus infecta al SNC por vía neural desde los ganglios periféricos correspondientes al sitio de la mordedura. El virus se replica activamente en el SNC, dirigiéndose nuevamente al resto del organismo, en especial a las glándulas salivales. El período de incubación depende de la distancia entre el sitio de la mordedura y el SNC y varía de 1 a 3 meses. El daño del SN ocurre por mecanismo directo, mediante la replicación viral, que determina lisis celular. El diagnóstico de rabia se realiza mediante inmunofluorescencia, técnica que detecta antígenos virales en células nerviosas.

Parálisis. La enfermedad paralítica o poliomielitis corresponde a la lesión del SNC que se caracteriza por la pérdida de funciones motoras y/o sensitivas. El virus polio (enterovirus) es el agente que más se ha asociado a parálisis. Estos virus son capaces de dañar al SNC por acción directa, ya que el proceso de replicación viral determina la lisis celular, fundamentalmente de neuronas motoras. En Chile, con la aplicación de la vacuna a virus vivo atenuado (Sabin) se logró erradicar la poliomielitis; en las Américas, el último caso de poliomielitis por virus silvestre se observó en Perú en 1991. Existen tres tipos de virus polio que afectan al hombre (1, 2 y 3), contra los que se dirige la vacuna; se ha observado que los nuevos casos de parálisis que se detectan actualmente se asocian a enterovirus no-polio o virus vacuna polio.

La infección por virus polio puede presentarse clínicamente de tres formas :

a) Infección asintomática (la más frecuente, 90-95% de las infecciones). El virus ingresa a la orofaringe e intestino donde se multiplica, para luego ser eliminado por las deposiciones. Se desarrolla una respuesta inmune protectora contra el tipo de virus infectante.

b) Infección menor o polio abortiva (4-8% de las infecciones). El virus compromete amígdalas, ganglios cervicales, placas de Peyer y sistema retículoendotelial (SRE), dando origen a cuadros que simulan un estado gripal (fiebre, cefalea, mialgias, dolor abdominal).

c) Infección mayor o polio paralítica (1-2% de las infecciones). El virus sobrepasa el SRE y por una viremia secundaria alcanza al SNC. Si la diseminación es meníngea da origen a una meningitis aséptica; si afecta a la sustancia gris del encéfalo y médula espinal comprometerá a sus células motoras, principalmente a las del asta anterior de la médula, produciendo una encefalitis o más frecuentemente, una parálisis flácida, que se caracteriza por ser asimétrica, indolora y determinar secuelas motoras.

SÍNDROMES AGUDOS POSTEXPOSICIÓN VIRAL

La Tabla 12-3 muestra los principales síndromes agudos postexposición. Estas enfermedades del SN se presentan después de la infección viral, sin que sea posible aislar dicho agente del SN durante el síndrome. La patogenia de estas enfermedades no está claramente definida.

Encefalomiелitis postinfección o inmunización. Corresponden a cuadros de encefalomiелitis que pueden manifestarse después de 7-10 días de exposición. Comprometen fundamentalmente la sustancia blanca (leucoencefalitis), produciendo desmielinización de encéfalo y médula. El mecanismo de lesión se relaciona con la respuesta inmune inducida por la infección viral. Se postula que el virus arrastra material del SN inserto en el manto del virus (mielina), durante del proceso de yemación, el cual es reconocido como extraño por el sistema inmune, que monta una respuesta inmune contra el virus y simultáneamente contra la mielina; también se ha observado semejanza de determinantes antigénicos entre proteínas virales (virus sarampión) y la mielina. Otra hipótesis postula que después de la lisis de las células, quedan algunos antígenos celulares internos expuestos, los que son reconocidos como extraños por el sistema inmune. Las encefalitis postinfecciosas tienen mejor pronóstico que las agudas. La mayoría se recupera con poca o ninguna secuela en 3-6 meses.

Neuritis periféricas. Clínicamente se describen dos tipos, que afectan a uno o varios nervios. Las neuritis únicas más conocidas son las producidas por el virus varicella-zoster, el cual compromete el nervio al viajar desde el ganglio sensitivo, donde se encuentra latente, hacia la periferia en la piel. El virus del herpes simplex también puede producir neuritis simple.

La polirradiculoneuritis de Guillain- Barré consiste en una lesión transitoria de varias raíces nerviosas, que se ha asociado a muchos virus (enterovirus, influenza, vacunas, etc.) y suele confundirse inicialmente con poliomiелitis por producir una parálisis progresiva de extremidades, aunque a diferencia de ésta es simétrica, con compromiso sensorial y se recupera sin secuelas.

INFECCIONES LENTAS

La Tabla 4 muestra los principales síndromes o enfermedades virales crónicas que afectan al SNC. Estas infecciones son poco frecuentes; se caracterizan por tener un largo período de incubación y evolucionar como una enfermedad crónica del SNC con demencia, que finalmente lleva a la muerte. En ellas se puede demostrar la presencia de agentes virales en el SNC; en algunos casos, estos agentes no corresponden a partículas virales convencionales. Se desconoce la patogenia de estas enfermedades.

Panencefalitis esclerosante subaguda del sarampión. Esta enfermedad, cuyo agente etiológico es el sarampión, es poco frecuente, especialmente después del empleo de la vacuna, y se caracteriza porque tiene un largo período de incubación. La exposición al virus sarampión ocurre en los primeros años de la vida y se manifiesta en jóvenes entre 5 y 17 años. Produce un deterioro progresivo del SNC, especialmente de funciones intelectuales, acompañado de mioclonías y convulsiones generalizadas, progresando al coma y a la muerte. La evolución es de meses a 10 años y en ellos se encuentran niveles altos de anticuerpos antisarampión en la sangre y en el LCR. En el SNC se observa inflamación perivascular, inclusiones citoplasmáticas e intranucleares en neuronas, astrocitos y oligodendroglia. Finalmente ocurre la lisis de estas células y desmielinización. No se dispone de terapia efectiva. La enfermedad se produciría por virus sarampión que no completa su ciclo replicativo; el virus no es capaz de sintetizar la proteína viral M necesaria para su ensamblaje, con la consiguiente acumulación de componentes virales en la célula infectada.

Panencefalitis progresiva de la rubeola. Es una enfermedad lenta y progresiva descrita en pacientes de sexo masculino con rubéola congénita, que han desarrollado la enfermedad a los 18-19 años. Clínicamente se caracteriza por deterioro intelectual, convulsiones y ataxia. Estos pacientes presentan un daño generalizado del SNC con atrofia óptica y alteraciones del cerebelo que puede durar 4-10 años. En el LCR los anticuerpos antirubéola son elevados. El SNC muestra panencefalitis con inflamación perivascular. En ocasiones se ha comprobado la presencia del virus rubéola. Su patogenia no es clara; se plantea una enfermedad causada por el depósito de complejos inmunes o como resultado de la acción de la respuesta inmune sobre las neuronas.

Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Esta enfermedad se caracteriza por una demencia presenil progresiva. Ocurre con una frecuencia de 1 en 1 millón de personas. Se postula una posible naturaleza iatrogénica (transplante de córnea, implantación de electrodos de EEG) existiendo, además, una forma hereditaria o familiar. Por otra parte, se han descrito proteínas infectivas carentes de ácido nucleico y con capacidad replicativa, denominadas priones, en relación a la patogenia de esta enfermedad. Estas proteínas están codificadas por un gen celular, a diferencia de los virus cuyas proteínas son codificadas por el genoma viral. Su peculiar mecanismo de replicación incluye la conversión de proteínas normales precursoras en moléculas alteradas al inducir cambios conformacionales en ella

Esta enfermedad, al igual que las restantes encefalopatías espongiiformes, se caracteriza por una degeneración progresiva del SNC, especialmente de la materia gris, y su nombre deriva del aspecto histopatológico esponjoso, producto de la vacuolización neuronal con pérdida de estas células. También se observan estructuras delgadas (fibrillas) debido a la acumulación de la proteína anormal, la que conforma las placas amiloides. El progreso a la demencia en el Creutzfeldt-Jakob es tan rápido, que a pesar del grado de pérdida neuronal hay poca o ninguna atrofia cerebral, a diferencia de lo que ocurre en otras demencias (enfermedad de Alzheimer).

Enfermedad de kuru. Esta enfermedad se presentaba en aborígenes de Nueva Guinea, en quienes el agente infeccioso se transmitía por la práctica del canibalismo. En estas tribus, el kuru llegó a constituir el 90% de las causas de muerte de las mujeres, debido a que eran ellas las que más estaban en contacto o comían los cerebros de los muertos. Con el control del canibalismo se ha logrado disminuir la frecuencia de la enfermedad.

Clínicamente hay ataxia cerebelar y alteraciones cerebrales que llevan a la completa incapacidad motora y muerte en menos de 1 año. La demencia en el caso del kuru no es un rasgo esencial, pudiendo presentarse en la fase terminal. En las lesiones cerebrales por esta enfermedad se presentan placas con depósitos amiloides y de una proteína de 27 Kd denominada príon.

Encefalopatías en animales. El scrapie es una infección del ganado ovino y caprino producido por priones, que ha existido en Inglaterra por más de 200 años. Se transmite por contacto directo o indirecto entre animales y frecuentemente se adquiere al nacimiento. Otra encefalopatía transmisible es la encefalopatía bovina esponjiforme (BSE) que afecta al ganado vacuno, y es muy importante por las consecuencias económicas y porque se puede transmitir al humano. En 1985-6 emergió en Gran Bretaña una epidemia en el ganado vacuno, caracterizado por ataxia progresiva del tren posterior (vacas locas) de largo período de incubación. La epidemia se extendió porque los animales eran sacrificados a los 2 años de edad, antes que se manifestaran los síntomas; se demostró que la causa fue la alimentación de los vacunos con macerados de carne y huesos provenientes de ovejas con scrapie. Con posterioridad a estos hechos empezó a observarse una variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, en seres humanos jóvenes y se ha relacionado con el consumo de carne de vacunos con BSE. En estos casos, los priones habrían atravesado la barrera de especies y afectado al hombre.

CUESTIONARIO

1. Mencione las posibles puertas de entrada y vías de diseminación de los virus que infectan al SN.
2. Describa los mecanismos de lesión del SN involucrados en las infecciones virales del sistema nervioso
3. Mencione los principales síndromes producidos por infecciones virales del SNC.
4. Mencione los principales virus que se manifiestan como meningitis.
5. etiología de la meningitis, ¿cuáles son los virus más frecuentes en Chile?
6. Señale las principales características de las encefalitis virales.
7. ¿Cuáles son los agentes virales que con mayor frecuencia producen encefalitis en Chile?
8. Señale las posibles fuentes de origen del virus herpes simplex en la encefalitis por este agente.
9. Describa las formas clínicas que puede presentar la infección por virus polio.
10. Describa el mecanismo patogénico de la poliomyelitis.
11. ¿Cuál es la importancia de la rabia? ¿Se puede erradicar la rabia?
12. Describa los síndromes agudos postexposición viral y mencione los posibles agentes.
13. Mencione las principales infecciones lentas del SNC indicando su etiología.
14. ¿Cuáles son los argumentos que permiten demostrar la condición de enfermedad infecciosa del síndrome de Creutzfeldt-Jakob? ¿Cuál sería el agente de esta enfermedad?
15. ¿Se transmite al hombre la “enfermedad de las vacas locas”?

TABLA 1. INFECCIONES VIRALES AGUDAS DEL SISTEMA NERVIOSO.

<u>SÍNDROME</u>	<u>VIRUS</u>	<u>TIPO DE LESIÓN</u>
Meningitis	Parotiditis Enterovirus Herpes simplex	Inflamación de las meninges.
Encefalitis	Enterovirus Parotiditis Rabia Herpes simplex Arbovirus	Necrosis neuronal, inflamación perivascular, segmentaria y focal.
Parálisis	Polio 1, 2 y 3 Enterovirus	Necrosis neuronal, Inflamación perivascular.
Demencia	HIV	Meningitis, atrofia cortical, vacuolización, necrosis focal, astrocitosis reactiva.
Neuritis periférica	Herpes simplex Varicella zóster	Necrosis neuronal.

TABLA 2. SÍNDROMES CLÍNICOS PRODUCIDOS POR ENTEROVIRUS.

<u>SÍNDROME</u>	<u>Polio</u>	<u>Coxsackie A</u>	<u>Coxsackie B</u>	<u>ECHO</u>
Parálisis	+	+	+	+
Encefalitis	+	+	+	+
Meningitis	+	+	+	+
Miocarditis			+	
Pericarditis			+	
Pleurodinia			+	
Herpangina		+		
Pie-mano-boca			+	
Exantemas			+	+

TABLA 3. SÍNDROMES AGUDOS POST EXPOSICIÓN VIRAL.

<u>SÍNDROME</u>	<u>VIRUS</u>	<u>TIPO DE LESIÓN</u>
Encefalomiелitis	Sarampión Rubéola Parotiditis Varicella-zoster Vaccinia Vacuna antirrábica	Desmielinización, proliferación microglial agregación linfocitaria.
Polirradiculoneuritis (S. de Guillain-Barré)	Influenza (vacuna) Enterovirus Epstein-Barr Otros	Desmielinización, inflamación y degeneración de raíces nerviosas y ganglios.

TABLA 4. INFECCIONES VIRALES CRÓNICAS O LENTAS DEL SISTEMA NERVIOSO.

<u>SÍNDROME</u>	<u>VIRUS</u>	<u>TIPO DE LESIÓN</u>
Panencefalitis esclerosante subaguda (PES)	Sarampión	Degeneración neuronal.
Panencefalitis progresiva	Rubeola	Desmielinización y proliferación.
Leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP)	Polioma (JC)	Desmielinización multifocal, hiperplasia de astrocitos y oligodendrogliа.
Encefalopatías espongiiformes de Creutzfeldt - Jakob y <i>kuru</i>	No convencionales (priones)	Degeneración espongiiforme y atrofia cerebral.

BIBLIOGRAFÍA

1. Collier L, Oxford J. Unconventional agents: viroids, virinos and prions y Viral diseases of the Central Nervous System. En: Collier L, Oxford J. Human Virology. Oxford: Oxford University Press, 1993; 297-304 y 307- 18.
2. Berría M. Infecciones lentas. En: Carballal G, Oubiña JR. Virología Médica. Buenos Aires: El Ateneo, 1991; 333- 40.
3. Chesebro B. Unclassified agents. En: Fields B, Knipe D. Virology, 2ª ed. New York: Raven Press, 1991; 1025- 36.
4. Larghi O. Familia *Rhabdoviridae*. En: Carballal G, Oubiña JR. Virología Médica. Buenos Aires: El Ateneo, 1991; 189- 203.
5. Novillo A. Familia *Picornaviridae*. En: Carballal G, Oubiña JR. Virología Médica. Buenos Aires: El Ateneo, 1991; 157- 65.
6. Prusiner S. Genetic and infectious prion diseases. Arch Neurol 1993; 50:1129-53.
7. Prusiner S. The prion diseases. Sc Am 1995; 272: 48- 57.
8. Rueckert R. *Picornaviridae* and their replication. En: Fields B, Knipe D. Virology, 2ª ed. New York: Raven Press, 1991; 409- 50.
9. Wagner R. *Rhabdoviridae* and their replication. En: Fields B, Knipe D. Virology, 2ª ed. New York: Raven Press, 1991; 489- 503.

INFECCIONES VIRALES EN PIEL Y MUCOSAS

Numerosos virus pueden afectar la piel y las mucosas, especialmente durante la infancia. Las infecciones virales en la piel pueden ocasionar una amplia gama de manifestaciones, por lo que al realizar el diagnóstico se deben considerar aspectos epidemiológicos, clínicos y virológicos. Algunos virus causan enfermedades específicas, como el sarampión, la varicela, la viruela, pero con frecuencia se da la situación de que diferentes virus pueden producir un mismo síndrome (Ej. exantema macular por virus rubéola, parvovirus B19 o Enterovirus), o incluso, un mismo virus puede ser la causa de distintos síndromes (Ej. Enterovirus causan exantemas máculo papulares, vesiculosos o purpúricos). Los virus que afectan la piel y mucosas pertenecen a distintas familias virales y, por ende, presentan diferencias en sus características estructurales y patogénicas. Es así como algunos virus pueden penetrar directamente por la piel y mucosas, como en el caso de las infecciones por virus papiloma humano y herpes simplex, mientras que otros ingresan por la vía respiratoria (Ej. Virus sarampión, rubéola, varicella-zoster) o por vía digestiva, como los Enterovirus. Las manifestaciones clínicas que originan pueden ser el resultado de la replicación viral en células de la epidermis o un efecto secundario de ésta en otro tejido del cuerpo. Los virus que dan enfermedades cutáneas en forma primaria son los virus papiloma humanos, algunos virus herpes humanos y los virus pox, humanos y de algunos animales. En forma secundaria, se presentan manifestaciones cutáneas en infecciones por virus sarampión, rubéola, Enterovirus, parvovirus B19, retrovirus y en algunos casos de virus hepatitis B.

A continuación se describen algunos agentes virales que afectan la piel. Las infecciones por virus herpes se presentan en el Capítulo : “Virus herpes humanos” y los Enterovirus en el Capítulo : “Virus Entéricos”.

VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV)

Epidemiología y Patogenia

Se encuentran distribuidos en todo el mundo y se les considera la principal enfermedad de transmisión sexual. En nuestro país se ha encontrado una prevalencia poblacional de 15,6% en mujeres mayores de 17 años, siendo más elevada en mujeres bajo los 25 años (35%) y menor al 10% en mujeres mayores de 50 años.

Pertenece al género Papilomavirus de la familia *Papovaviridae*. Presentan un diámetro de 55 nm, son virus desnudos y poseen DNA circular de doble cadena en el interior de una nucleocápsula icosaédrica. Los HPV producen infecciones locales y persistentes. Estas originan tumores epiteliales y se asocian a neoplasias genitales. La replicación de HPV está ligada al estado de diferenciación celular. En las capas profundas del epitelio, donde se encuentran las células basales en división, sólo se expresan regiones tempranas del genoma viral, o sea que no se están produciendo partículas virales. Las regiones tardías del genoma (que dan origen a proteínas estructurales) se expresan en las células diferenciadas cercanas a la superficie del epitelio. Aunque estas células superficiales no se dividen y están destinadas a morir, su localización facilita la transmisión viral a un contacto susceptible. En las lesiones benignas, el DNA viral se encuentra episomal al cromosoma celular, mientras que en las malignas, El DNA viral se integra al genoma celular. Al integrarse el DNA viral, se alteran sitios de regulación de su replicación y transcripción, y las proteínas expresadas E6 y E7 interactúan con proteínas de regulación del ciclo celular, originándose una transformación de la célula infectada. En lesiones benignas, el DNA viral se ubica en el núcleo de las células infectadas extracromosómicamente (DNA episomal), pero en las neoplasias, el DNA viral está integrado al DNA celular, proceso que estaría regulado por genes virales.

La transmisión ocurre por contacto estrecho, pudiendo tener un período de incubación variable de semanas a meses. Se presume que el ciclo viral comienza con el ingreso de partículas virales al estrato basal y a medida que las células se diferencian y progresan a la superficie del epitelio, sintetizan partículas virales que se liberan cuando las células llegan al estado de queratinocito maduro.

Clínica

En base a la homología del DNA, se han descrito más de 100 tipos que se asocian con distintas entidades clínico-patológicas, algunos de los cuales poseen alto grado de malignidad. Estos infectan epitelio escamoso en distintas partes del cuerpo, existiendo una marcada especificidad de los diferentes tipos de HPV por las distintas localizaciones. Por ejemplo, el tipo 2 se asocia con verruga vulgar de manos, brazos y piernas; los tipos 6,11 con condilomas acuminados genitales y papilomatosis laríngea; los tipos 16 y 18 con neoplasias de cuello uterino, pene y ano.

Diagnóstico virológico

Los papilomas se han estudiado fundamentalmente a nivel molecular por la imposibilidad de propagarlos en cultivos celulares. La detección de antígenos virales por métodos inmunohistoquímicos, como inmunoperoxidasa, y del ácido nucleico viral mediante la hibridación con sondas genéticas o amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), permiten el diagnóstico de estas infecciones.

Tratamiento y profilaxis

En la actualidad no se dispone de un tratamiento efectivo y seguro para muchas infecciones por virus papiloma. En general, se basan en la destrucción química o física de las lesiones visibles. Tampoco existen vacunas efectivas.

VIRUS del MOLUSCO CONTAGIOSO (MCV)

Epidemiología y Patogenia

El MCV es un virus pox humano, con dos subtipos. El MCV-1 es el más frecuente y se presenta generalmente en menores de 5 años. En adultos las lesiones en área genital constituyen una ETS y en pacientes inmunodeficientes se manifiestan en forma diseminada. La transmisión ocurre por contacto directo y también es posible el contagio a través de fomites.

Clínica

El período de incubación es de 2 a 7 semanas. Las lesiones son pápulas cupuliformes de centro deprimido, de unos pocos mm hasta 1 a 2 cm, distribuidas en cara, cuello, tronco y extremidades. Se resuelven generalmente en forma espontánea entre 4 semanas hasta varios meses.

Diagnóstico virológico

El diagnóstico es clínico y en ciertos casos se puede realizar un frotis que muestra los queratinocitos alterados con inclusiones intracitoplasmáticas, denominados cuerpo del molusco.

Tratamiento y profilaxis

El cidofovir ha mostrado utilidad en infecciones por virus pox. No existe profilaxis.

INFECCIONES ZOONOTICAS POR VIRUS POX

El Orf o ectima contagioso y el nódulo del ordeñador son originados por virus pox de animales y se observan en pacientes que contactan lesiones o secreciones de ovinos o de bovinos infectadas, respectivamente. Se presentan como nódulos de más de 1 cm de diámetro, generalmente en las manos, asociado a linfadenopatía, linfangitis y fiebre. Evolucionan clínicamente en distintos estadios y son autoresolutivos en 4 a 6 semanas.

VIRUS VIRUELA

Epidemiología y Patogenia

Uno de los principales logros de la medicina de este siglo ha sido la erradicación de la Viruela en todo el mundo. En 1977 se identificó el último caso de viruela silvestre en Somalia y en 1979 se declaró erradicada del mundo. Esto se logró gracias a las campañas mundiales de vacunación; a la eficacia de la vacuna atenuada, constituida por el virus vaccinia, de gran semejanza con el virus de la viruela y a la constancia antigénica que posee el virus de la viruela, existiendo un sólo serotipo viral.

Ambos virus, viruela y vaccinia, pertenecen a la subfamilia Cordopoxvirinae, familia *Poxviridae*, (virus que forma pústula). Son los virus más grandes conocidos, con un tamaño de 300-400 nm, de forma ovoide o de ladrillo. La nucleocápsula es compleja, cubierta por una envoltura lipoproteica, en cuyo interior se encuentra el DNA de doble cadena. Poseen enzimas propias que les permiten replicar en el citoplasma, produciendo cuerpos de inclusión que corresponden a sitios de replicación viral. Las nuevas partículas virales salen de la célula a través de microvellosidades y el manto no se adquiere por el proceso de yemación sino que se sintetiza *de novo*.

Clínica

La viruela se presentaba con fiebre alta, como un exantema vesiculoso hemorrágico generalizado que dejaba cicatrices en la piel. Su mortalidad por neumopatía era del 30%.

Diagnóstico

El diagnóstico era clínico. La morfología de los virus Pox es característica, por lo que se pueden identificar a microscopía electrónica.

Tratamiento y profilaxis.

El uso de la methisazone, droga antiviral bastante efectiva para los virus pox, se discontinuó al erradicarse la infección.

VIRUS SARAMPIÓN

Epidemiología y patogenia

El Sarampión se distribuye en todo el mundo y es la primera causa de muerte por enfermedades prevenibles por vacunación. La letalidad alcanza un 3 a 6%, afectando principalmente a los lactantes entre 6 y 11 meses y niños en estado de malnutrición. A nuestro continente llega en el siglo XVI, traído por los Españoles. Las estrategias aplicadas en América se han centrado en mantener altos niveles de inmunidad contra el Sarampión en niños y en la detección de la cadena de transmisión mediante vigilancia activa,

incluyendo la identificación del tipo de virus circulante. Esto último permite identificar casos importados ya que existe una distribución de genotipos en el mundo.

En Chile, durante los años 1960 y 1964 se presentaron tasas superiores a 400 casos por 100.000 habitantes, registrándose el mayor número de fallecidos. En 1964 se inició el programa regular de vacunación a los 8 meses de edad y se logró disminuir la incidencia en un 180%. Posteriormente se observaron brotes de menor intensidad cada 4 años. Sin embargo en 1979 y 1988, el patrón cíclico de los brotes cambió, alcanzando una magnitud similar al período pre-vacunal. En 1983 fue modificado el esquema de vacunación al año de edad y en 1990 se introdujo la vacuna trivérica liofilizada, con un refuerzo a los 6 años. Desde entonces, las coberturas nacionales de vacunación al año de edad se han mantenido en 95% o más. En 1992 se realizó una campaña masiva de vacunación y en 1993 sólo se confirmó un caso importado de Venezuela. En 1996 se repite la campaña de vacunación masiva, observándose en los años siguientes algunos casos importados y brotes nacionales aislados. Luego de lograr la interrupción de la transmisión en el país, se produjo un cambio en el perfil de presentación en la edad de los casos, desplazándose de niños en edad escolar a grupos no vacunados, es decir, menores de 1 año y mayores de 20 años. En 2003 se confirmó el último caso de un chileno procedente de Japón, aislándose el virus H1, genotipo circulante en ese país.

El virus sarampión tiene un diámetro de 200 nm, pertenece al género *Morbillivirus*, familia *Paramyxoviridae*. Como todos los virus de esta familia, tiene un ácido ribonucleico (RNA) de polaridad negativa unido a una polimerasa viral, cubierto por una nucleocápsula (NC) helicoidal, que a su vez está rodeada por un manto o envoltura muy lábil a las temperaturas extremas. El manto está compuesto por una doble capa lipídica y tres proteínas importantes en la patogenia de la infección. La primera es una proteína no glicosilada (proteína M) ubicada hacia el interior del manto. Hacia el exterior se ubican dos proteínas glicosiladas: la gp HN con actividad de hemaglutinina y neuraminidasa, responsable de la unión del virus a los receptores celulares, y la gp F o de fusión, que permite la penetración del virus por fusión de la envoltura viral con la membrana celular y la fusión de células infectadas entre sí o con células sanas, formando sincicios. Existe un sólo serotipo de virus sarampión y el ser humano es su único reservorio. La replicación viral se efectúa en el citoplasma, donde el nuevo RNA sintetizado se asocia con las proteínas de la nucleocápsula, formando nuevos viriones que salen de la célula por yemación.

El virus es altamente contagioso y se transmite a través de gotitas de saliva en suspensión. Su transmisión es mayor entre 1 y 3 días desde el inicio de los síntomas, disminuyendo tras el inicio del exantema. Ingresa por la vía respiratoria y por la conjuntiva, y desde allí alcanza el sistema reticuloendotelial (SRE) por vía hematogena (viremia primaria). Una segunda viremia permite al virus alcanzar todo el aparato respiratorio, la piel y eventualmente otros órganos, incluso al sistema nervioso central (SNC). La evolución de esta infección generalizada determina una intensa estimulación antigénica que induce una respuesta humoral y celular, completa y de larga duración. El virus sarampión también puede replicar en macrófagos y linfocitos, pudiendo inducir una depresión transitoria de la inmunidad celular (anergia).

Clínica

El período de incubación promedio es de 11 días y es seguido por el período prodrómico (2-3 días), caracterizado por fiebre, coriza, conjuntivitis, tos y enantema (manchas de Koplik). Luego se manifiesta el exantema morbiliforme (macular o maculo-papular muy eritematoso) que se inicia detrás de las orejas y en la frente y se extiende a la cara, cuello, tronco y extremidades en 3 días. El exantema confluye a medida que los síntomas prodrómicos son más severos. Luego de 5 a 6 días el exantema desaparece, dejando una fina descamación. No está clara la etiología de estas lesiones y, aunque no es posible aislar virus en ellas, se observa una vasculitis con antígenos presentes en las células infectadas en la piel.

El sarampión es una infección grave y eventualmente letal por el compromiso respiratorio que produce. También puede complicarse con otras infecciones bacterianas o virales (neumonitis, neumonías, otitis, bronquitis, etc). La meningoencefalitis por sarampión (15% de mortalidad) puede presentarse durante la evolución de la enfermedad aguda o ser de aparición tardía (enfermedad desmielinizante por hipersensibilidad retardada). La panencefalitis esclerosante subaguda corresponde a una infección lenta del SNC, poco frecuente, tardía y mortal.

Diagnóstico virológico

El diagnóstico de sarampión en nuestro país, siempre debe ser confirmado por el Instituto de Salud Pública (ISP). La serología permite el diagnóstico de infección aguda, mediante técnicas como ELISA e Inhibición de la Hemaglutinación. El aislamiento viral en cultivo celular a partir de una muestra de orina tomada durante los dos primeros días de presentar el exantema, permite estudiar el tipo viral mediante secuenciación de su RNA.

Profilaxis y tratamiento

La vacuna antisarampión es a virus vivo atenuado y se administra junto con las vacunas antirubéola y antiparotiditis. No se dispone de tratamiento antiviral específico.

VIRUS RUBÉOLA

Epidemiología y patogenia

Antes de la introducción de la vacuna en forma programática en Chile, la Rubéola mostraba un ascenso sostenido, con brotes cíclicos. En la década de los ochenta se registraron dos grandes brotes: en 1983 y en 1988 con más de 12.000 y 16.000 casos, respectivamente. A partir de 1990, cuando se introdujo la vacuna SPR, hasta 1996 se observó un descenso paulatino de la incidencia de la Rubéola, afectando principalmente a los menores de 10 años. En 1997 se observó un repunte del número de casos, con un desplazamiento de la edad de éstos hacia adolescentes y adultos jóvenes (10 a 29 años). Frente a esta situación en 1999 se realizó una campaña de inmunización dirigida a mujeres entre 10 y 29 años, con el fin de evitar el Síndrome de Rubéola Congénita. Desde julio de 2003 se inició la Vigilancia Integrada Sarampión-Rubéola, para conocer la magnitud real de la enfermedad.

La rubéola es una enfermedad de la niñez y de alta prevalencia en nuestro país. Se presenta generalmente en primavera como una infección asintomática en el 50% de los casos y es de moderada contagiosidad. Era considerada una infección benigna hasta 1941, cuando Gregg describió malformaciones congénitas asociadas a rubéola materna durante el embarazo. En los pacientes infectados, su evolución es benigna, pero de alto riesgo cuando la infección ocurre en el primer trimestre del embarazo por la posibilidad de transmitir el virus al embrión.

El virus rubéola pertenece a la familia Togaviridae y es el único miembro del género Rubivirus. Tiene un diámetro de 60-70 nm. Su RNA lineal de polaridad positiva se ubica en el interior de una nucleocápsula icosaédrica, rodeada por una envoltura lipoproteica de la cual emergen espículas, formadas por las proteínas E1 y E2, las cuales serían los antígenos que inducirían una respuesta inmune protectora. El ser humano es su único huésped y existe un sólo serotipo; replica en el citoplasma y sale de la célula por yemación, llevando consigo lípidos celulares y proteínas virales.

El virus se transmite por vía aérea a través de las secreciones respiratorias y se elimina desde una semana antes del exantema hasta 2 semanas después de finalizado. Ingresa al aparato respiratorio, multiplicándose en éste y en los nódulos linfáticos. El producto viral pasa a la sangre y esta viremia permite que llegue a otros tejidos como piel, sistema nervioso, aparato respiratorio y otros órganos blanco.

Clínica

Tiene un período de incubación de 14 a 21 días y luego de 3 a 4 días de síntomas prodrómicos como cefalea, conjuntivitis, tos y odinofagia, se presenta como un cuadro de fiebre baja y exantema rosado no confluyente, que comienza en la cara y cuello y luego se disemina al cuerpo, acompañado de aumento de volumen de los ganglios linfáticos que se hacen palpables, principalmente en las áreas retroauricular y cervical. Luego de 2 a 3 días el exantema desaparece dejando una fina descamación. También puede acompañarse de esplenomegalia, artralgias (dolores articulares) y artritis (inflamación de las articulaciones), posiblemente debido al depósito de complejos inmunes. La infección sistémica producida por este virus induce inmunidad celular y humoral duradera.

La infección por virus rubéola durante el embarazo puede producir abortos, mortinatos, anomalías congénitas o bajo peso de nacimiento. La infección ocurre a través de la placenta, por vía hematogena a partir de la viremia materna, con altas tasas de transmisión durante los tres primeros meses de gestación, produciendo una alteración en la organogénesis y desarrollo hipoplásico de los órganos. Afecta prácticamente a todos los sistemas. Si se produce durante las primeras 8 semanas de embarazo el riesgo de Síndrome de Rubéola Congénita (SRC) es de un 85 a 95%; si se produce entre las 9 y 12 semanas es de un 52% y entre las 13 y 20 semanas, disminuye a un 16%. Después de las 20 semanas rara vez causa defectos. La tríada clásica del SRC presenta catarata, cardiopatía congénita y sordera. Sin embargo, puede presentarse sólo una de estas manifestaciones y aparecer tardíamente. El 50 a 70% de los recién nacidos con infección congénita por rubéola pueden nacer sin signos clínicos y presentar manifestaciones en dos, cuatro o más años. Durante el primer mes de vida, se detectan principalmente ductus arterioso persistente, hepatomegalia, trombocitopenia y púrpura. Entre los defectos congénitos de manifestación tardía, la sordera es la más frecuente.

Diagnóstico virológico

El diagnóstico clínico no es de certeza y se debe recurrir a la confirmación a través de métodos serológicos como el ELISA, detectando la presencia de IgM específica. Este debe ser notificado y el diagnóstico se realiza en el ISP. En los niños con SRC, la detección de IgM puede realizarse durante los primeros 6 meses de vida y el virus puede ser aislado de LCR, lágrima, orina y secreciones faríngeas hasta por un año. La IHA utiliza la capacidad de los antígenos de superficie (espículas) del virus rubéola de aglutinar glóbulos rojos. La presencia de anticuerpos antirubéola en el suero de un paciente inhibe la capacidad de hemaglutinación y permite determinar y cuantificar el nivel de anticuerpos.

Profilaxis y Tratamiento

Se dispone de una vacuna a virus atenuado, que se administra por vía subcutánea junto con las vacunas antisarampión y antiparotiditis. Su uso va destinado a la prevención de la infección congénita, evitando la infección de la mujer durante el embarazo. No se dispone de tratamiento con drogas antivirales específicas.

PARVOVIRUS B 19 (PV-B19)

Epidemiología y patogenia.

Se distribuye en todo el mundo, alcanzando una seroprevalencia del 90% en adultos. La infección por PV-B19 afecta principalmente a preescolares y escolares, en forma de brotes intrafamiliares o en comunidades cerradas como los colegios. Se presenta generalmente en primavera y en invierno. Un estudio nacional mostó una prevalencia de 55% en banco de sangre.

Pertenece a la familia Parvoviridae. Es uno de los virus de menor tamaño, 20 nm, posee un DNA de hebra simple, cubierto por una nucleocápsula icosaédrica, sin manto. La proteína viral VP1 representa el

96% de los capsómeros virales y su neutralización por anticuerpos, impediría la adsorción viral a la célula. PV-B19 infecta y se multiplica integrado al DNA celular, en el núcleo de células que expresan antígeno P en la membrana plasmática, como son: células precursoras eritroides, endoteliales, miocárdicas y megacariocitos. Este antígeno se expresa en el trofoblasto en mayor cantidad al inicio de la gestación. La proteína no estructural NS1 es capaz de inducir apoptosis en eritroblastos y está relacionada con la citotoxicidad viral. No se sabe si PV-B19 sólo es capaz de establecer infecciones agudas o si es capaz de persistir en el individuo infectado, ya que se ha detectado genoma viral en piel, médula ósea, testículo y células sinoviales.

Clínica

El parvovirus B19 (PV-B19) es el agente causal del eritema infeccioso y también se ha asociado con otras patologías como artritis inflamatoria, anemias hemolíticas, trombocitopenia, neutropenia, miocarditis e hidrops (edema) y muerte fetal. El 25 a 30% de las infecciones son subclínicas. Se transmite por vía aérea y tras un período de incubación de 4-14 días, comienza el período prodrómico con escasa fiebre, leve compromiso del estado general y mialgias. Luego aparece rubor en las mejillas, de aquí el nombre de "enfermedad de la cachetada", y un exantema reticulado en las extremidades, que puede persistir por varios días (1 a 3 semanas), aumentando con el calor, el estrés y el ejercicio. La infección en adultos y especialmente en mujeres puede complicarse con artritis, la cual puede durar mucho más tiempo. Esta sería el resultado de depósito de complejos antígeno-anticuerpo. En pacientes con problemas hematológicos de base puede originar crisis aplásicas transitorias. También puede producir neutropenia y trombocitopenia. La transmisión transplacentaria se ha estimado en un 33 a 50% de los casos de infección materna y puede producir una severa anemia y muerte fetal. En pacientes con inmunodeficiencias congénitas puede desarrollar infecciones persistentes, originando cuadros de eritroblastopenia (anemia crónica severa).

Diagnóstico virológico.

No se ha logrado cultivar en sistemas convencionales. La prueba diagnóstica más útil es la detección de IgM anti - B19 mediante técnicas de ELISA o radioinmunoensayo. Estos anticuerpos aparecen a los 10-12 días post infección y duran 2-3 meses. La IgG aparece 15-17 días post infección y dura de por vida. También se puede diagnosticar mediante PCR de suero, especialmente en inmunodeficientes y en casos en que se sospecha tardíamente del PV-B19.

Tratamiento y profilaxis. No se dispone de vacuna ni de tratamiento específico.

ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES Y PRIONES

Dra. Vivian Luchsinger F.
Prof. Asistente
Programa de Virología
Facultad de Medicina
Universidad de Chile

Abril 2004

El síndrome de la vaca loca o encefalopatía espongiforme bovina (BSE) es una enfermedad fatal de los vacunos, descrita por primera vez en Inglaterra en 1986. Desde esa fecha se han detectado más de 160.000 casos, los que también se han presentado en otros países como Irlanda, Portugal, Alemania, Holanda, Suiza.

Este síndrome se incluye dentro de las encefalopatías espongiformes, denominación que engloba a un conjunto de patologías degenerativas del sistema nervioso, descritas en prácticamente todos los animales, incluyendo al ser humano, y cuyo nombre deriva del aspecto histopatológico del tejido cerebral (vacuolización con pérdida de neuronas adquiriendo un aspecto esponjoso).

Entre las encefalopatías espongiformes descritas en humanos se encuentran la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), el Kuru, la enfermedad de Gertsman-Sträussler-Schneiker y el insomnio familiar fatal. En los animales existe el scrapie (oveja), la encefalopatía espongiforme bovina (síndrome de las vacas locas), la enfermedad devastadora crónica del ciervo, la encefalopatía transmisible del visón, la encefalopatía espongiforme felina, entre otras.

El agente etiológico involucrado, prión, corresponde a una nueva forma infectiva: una estructura proteica carente de ácido nucleico y con capacidad de replicarse (¿amplificación?). Los priones son agentes patógenos con características únicas que los diferencian del resto de los microorganismos, inclusive de los virus.

Existe una proteína prión normal presente en las membranas de las células nerviosas, codificada por un gen celular localizado en el cromosoma humano 20. Estos priones normales se transformarían en anormales por cambios conformacionales determinados por una proteína prión alterada, constituyendo éste un mecanismo de replicación único (de α - hélice a lámina β). La acumulación de estas moléculas alteradas o la disminución de las proteínas normales produciría la enfermedad.

El concepto de barrera de especie, cuyo significado práctico se refiere a la posibilidad de adquirir esta enfermedad por consumo de carne de vacuno o de oveja infectada con encefalopatía espongiforme, se basa en la proteína prión celular, que debe ser semejante a la del prión anormal para que éste se replique. Aunque no se ha demostrado la infección del ser humano a través de la ingestión de carne contaminada, se ha asociado la aparición de una variante de ECJ (nvCJD) con la epidemia del mal de las vacas locas en UK (presentación en individuos más jóvenes, entre 20 y 35 años, con mayor sintomatología psiquiátrica).

Los priones infectivos son altamente resistentes a los agentes físicos y químicos que inactivan a los virus conocidos, tales como el calor y las radiaciones ionizantes o ultravioletas, requiriendo elevadas temperaturas por períodos prolongados para su inactivación. El único agente químico que ha demostrado ser efectivo en estas enfermedades es el hipoclorito de sodio al 2% por 2 horas.

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), cuyo nombre se debe a quienes describieron por primera vez esta entidad clínica alrededor de 1920, se caracteriza por un deterioro cerebral progresivo que se inicia con alteraciones de los patrones del sueño y de la alimentación, progresa con síntomas neurológicos como espasmos musculares, demencia, pérdida de las funciones cerebrales superiores y alteraciones del comportamiento y finaliza con el deterioro de las funciones cerebrales y cerebelares que llevan a la muerte del paciente. Su período de incubación es largo pudiendo alcanzar los 20 años, característica común a estas encefalopatías; en contraste, la evolución clínica de la enfermedad es breve, con la muerte de los pacientes generalmente en menos de un año. Su frecuencia se estima, a nivel mundial, en un caso por millón de personas por año y generalmente se afectan personas de más de 40 años.

La ECJ se puede presentar en tres formas : como caso esporádico, como una enfermedad heredable y como patología infecciosa. En relación a los casos esporádicos se desconoce la fuente de infección. Los casos heredables se presentan en ciertas familias en quienes se han identificado mutaciones en el gen que contiene la información para la síntesis de la proteína prión, determinando la producción de una proteína prión alterada, y estas mutaciones son heredadas por los miembros de estas familias. La forma infecciosa se ha planteado en relación a pacientes que habrían adquirido la enfermedad mediante la utilización de instrumental médico contaminado o el trasplante de tejidos de pacientes que sufrían de esta patología.

Una enfermedad parecida al ECJ es el Kuru, la cual se presentaba principalmente en mujeres y niños de tribus de Nueva Guinea que practicaban el canibalismo, desapareciendo tras el cese de esta práctica. Las características clínicas son semejantes a las descritas en la ECJ, aunque en muchos casos no se observa una demencia.

La enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) se presenta como una condición heredable en ciertas familias; es semejante a la ECJ, aunque con una mayor duración y con un predominio de la ataxia cerebelar (descoordinación del movimiento).

La demostración del origen infeccioso de patologías degenerativas del sistema nervioso constituye un hecho trascendental en la patología humana, que ha desencadenado numerosos estudios con el fin de relacionar agentes infecciosos con otras afecciones neurológicas. Por otra parte, la concurrencia de factores genéticos e infecciosos en estas enfermedades, plantea nuevos enfoques en la investigación, en el diagnóstico y en el tratamiento de estas afecciones.

Este nuevo y particular agente patogénico constituye un desafío para diversas ciencias tales como la biología, la neurología, la genética, la infectología, etc., las cuales deben resolver las incógnitas actuales permitiendo el manejo adecuado de estas enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

1. Berría MI. Infecciones lentas. pp 445-455. En : Virología Médica. Carballal G. y Oubiña J. Ed. El Ateneo, 2ª edición, Buenos Aires, 1996.
2. Prusiner, S.B. The prion diseases. Scientific American 1995, 272 : 48 - 57.
3. Prusiner SB. Genetic and infectious prion diseases. Arch. Neurol. 1993, 50 : 1129 - 1137.

RABIA

El virus de la rabia pertenece al género *Lyssavirus* de la familia *Rhabdoviridae*. Posee una forma característica de bala, contiene una hebra continua de ARN de polaridad negativa, una nucleocápsula helicoidal y un manto en el cual se proyecta la proteína G, principal antígeno inductor de anticuerpos neutralizantes, importantes componentes de la respuesta inmune contra este virus.

Epidemiología, patogenia y clínica

La distribución geográfica mundial de la rabia es variable, desde áreas de alta endemia a regiones donde la infección está ausente. En Chile, gracias al Programa de Control de Rabia instaurado en 1960, no hubo rabia humana entre 1972 y 1996, año en que se presentó el último caso, un menor de 7 años que falleció por un virus rábico compatible con una variante de murciélago tipo *Tadarida brasiliensis*. Si bien el perro es la principal fuente de infección para los humanos, en ciertas áreas como América del Norte y Europa los casos humanos se han originado por animales silvestres como zorros, mapaches y murciélagos insectívoros. Estos quirópteros constituyen un reservorio viral a partir del cual se originan casos de rabia en animales domésticos y en personas en forma eventual, pues la alta adaptación del virus rábico a ellos determina una escasa capacidad de afectar a otras especies animales. En Chile, por primera vez se detectó rabia en murciélagos en 1985.

El ser humano habitualmente se infecta por la mordedura de un animal rabioso que inocula el virus presente en su saliva. Con menor frecuencia se puede adquirir por: vía epidérmica (piel herida en contacto con saliva infectada); vía digestiva (por escoriaciones de la mucosa facial y bucal de animales carnívoros al consumir a otros infectados con rabia); vía respiratoria (por inhalación de aerosoles con el virus en suspensión) y por transplante de órganos (córneas).

Una vez en el organismo, el virus de la rabia se replica en el sitio de inoculación y se dirige por los nervios periféricos en forma retrógrada (centrípeta) hacia los ganglios espinales y al sistema nervioso central, ascendiendo en forma rápida al cerebro. Aquí se replica activamente y se disemina al resto del organismo, en especial a las glándulas salivales. La replicación viral determina lisis de las neuronas motoras, originando la parálisis flácida y ascendente típica de la enfermedad. Esta encefalomielitis generalmente es mortal.

El período de incubación es variable (1 mes- 2 años) y depende de la distancia entre el sitio de la mordedura y el SNC. Por esto la gravedad de la exposición se relaciona con la posibilidad de que el virus alcance las terminaciones nerviosas periféricas y la profilaxis consiste en aplicar vacunas e inmunoglobulinas que lo eviten.

Diagnóstico virológico

El diagnóstico generalmente se realiza detectando antígenos virales en células nerviosas mediante inmunofluorescencia en muestras de folículos pilosos del cuello o en cerebro.

Tratamiento y profilaxis

No existe tratamiento específico y por su alta letalidad, es fundamental la prevención, para lo cual se dispone de vacunas que contienen virus inactivado propagado en animales o en

cultivos celulares. Desde el año 2003, la vacuna preparada en cerebro de ratón (CRL) sólo se usa en animales. Este producto, creado en la década de 1950 por los chilenos Fuenzalida y Palacios, es producido en el Instituto de Salud Pública utilizando tres cepas virales: una de origen canino, una de humano y una cepa adaptada al laboratorio que desciende de la que originalmente aisló Pasteur (CVS= Challenge virus standard). Estos virus se propagan en ratones de menos de 24 horas de nacidos, para disminuir la presencia de sustancias sensibilizantes (mielina) asociadas a lesiones neurológicas y se inactivan con luz ultravioleta o β -propiolactona que actúan sobre el ácido ribonucleico.

Las vacunas de cultivos celulares se preparan en: células primarias (riñón de hamster o de perro, fibroblastos de embrión de pollo); líneas celulares diploides humanas (HDCV) o animales (mono rhesus) y en líneas celulares continuas (células VERO). La HDCV se utiliza para la profilaxis humana desde los años 70 y se prepara infectando fibroblastos de pulmón fetal humano con la cepa Pittman Moore que se inactiva con β -propiolactona. Las vacunas de líneas celulares continuas utilizan la cepa Wistar PM/WI multiplicada en células heteroploides (VERO) de riñón del mono verde africano (*Cercopithecus aetipos*) e inactivada con β -propiolactona.

Las vacunas en cultivos celulares son eficaces y más inmunogénicas y seguras que las de tejido nervioso; sin embargo, son más caras debido a la necesidad de aplicar procedimientos adicionales que aumenten la baja multiplicación viral.

Desde el 2003, el Ministerio de Salud dispuso que en humanos se aplique la vacuna antirrábica de cultivo celulares. Está indicada como profilaxis en forma previa o posterior al contacto. En el primer caso, debe administrarse a quienes presentan riesgo de exposición: trabajo con animales como veterinarios; personal de puestos fronterizos, estaciones cuarentenarias o de laboratorios donde se manipula virus rábico o se realiza el diagnóstico de rabia, y viajeros a áreas endémicas. Es necesario colocar 3 dosis (días, 7 y 28), a lo menos 10 días antes de comenzar el trabajo de riesgo. Requiere un refuerzo anual y revacunar cada 3 años.

La prevención en personas mordidas por un animal sospechoso o con rabia se realiza mediante la limpieza de la herida, la administración de inmunoglobulina y la aplicación de una serie de vacunaciones sucesivas, considerando el sitio y el tipo de la lesión y los antecedentes respecto al animal (ver ANEXO).

Como la rabia es una zoonosis, la vacunación de los animales involucrados es crucial en la prevención de la enfermedad humana, para lo cual se aplica a perros y gatos una vacuna que también contiene 3 cepas virales. En ellos, una dosis determina inmunidad protectora por, a lo menos, un año.

ANEXO:

La prevención en personas mordidas por un animal sospechoso o con rabia se realiza mediante la limpieza de la herida, la administración de inmunoglobulina y la aplicación de una serie de vacunaciones sucesivas, considerando el sitio y el tipo de la lesión y los

antecedentes respecto al animal (vacunado o no, sospechoso de padecer de rabia, en observación o no). La vacuna VERO debe ser administrada por vía intramuscular en el músculo deltoides, en niño o adulto. Las indicaciones de uso, según instructivo del Ministerio de Salud, son:

a) Una dosis los días 0, 3, 7, 14 y 30 (5 dosis) a las personas:

- Mordidas, rasguñadas o lamidas por un animal con signos sospechosos de rabia o diagnosticado como rabioso.
- Mordidas por un animal vago que muere.
- Mordidas por un animal vago que posterior a la mordedura desaparece, especialmente si el animal no fue provocado.
- Mordidas por un animal silvestre carnívoro.
- Mordidas o que hayan estado en contacto con murciélagos (juego con murciélagos, manipulación a manos desnudas, haya entrado a lugares cerrados donde viven colonias y sin usar protección respiratoria, entrada de murciélagos a los dormitorios).

b) Esquema rápido:

En los casos de inicio tardío de vacunación o cuando la exposición a un animal identificado como rabioso es masiva

Día 0: 2 dosis utilizando deltoides derecho e izquierdo

Día 7: 1 dosis

Día 14: 1 dosis

Día 30: 1 dosis

c) Esquema en personas previamente vacunadas:

- Menos de un año de haber sido vacunado: una dosis los días 0 y 3
- Entre 1 y 5 años de haber sido vacunado: una dosis los días 0, 3 y 7.
- Más de 5 años de haber sido vacunado: esquema completo con una dosis los días 0,3, 7, 14 y 30.
- Sin haber completado esquema de vacunación en exposiciones anteriores, independiente del tiempo transcurrido entre esa exposición y la actual: esquema completo de 5 dosis.

d) Interrupción del esquema de tratamiento: se debe reanudar y completar el esquema a partir del momento del abandono.

En las mordeduras graves por un animal altamente sospechoso de tener rabia o en personas expuestas a animales probadamente rabiosos y que no fueron vacunados dentro de los primeros 10 días post-exposición, debe aplicarse en forma simultánea suero antirrábico de origen humano (20 UI/kg de peso corporal) y en caso de no disponerse de éste, inmunoglobulina antirrábica de origen equino (40 UI/kg de peso corporal). Se debe infiltrar la mayor cantidad posible alrededor del sitio de la mordedura(s) y lo restante se debe colocar por vía intramuscular en un sitio distinto al de la vacuna.