



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

Departamento de Fisiología y Farmacología

Facultad de Farmacia

**El virus de la gripe: Patógeno emergente y
reemergente**

Xenia Iraisia Mota Rojas

Tutora: Dra. M^a Isabel Muñoz Barroso

2014

Agradecimientos

A la Dra. M^a Isabel Muñoz Barroso, por tu orientación y guía durante la elaboración de este trabajo, por tu tiempo para responder a mis inquietudes y tu paciencia para conmigo, sin ti no hubiese podido hacerlo.

A los profesores que forman el grupo docente encargado del máster que finaliza con la presentación de este trabajo. Los conocimientos aquí adquiridos han abierto mis ojos hacia el fascinante mundo de la investigación biomédica y han despertando en mí el interés de redireccionar mi carrera hacia la ella, aunque no quisiera abandonar la clínica. Me siento privilegiada de haber aprendido de ustedes.

A mi familia por su apoyo incondicional desde lejos. Siempre están presentes en mi pensamiento y corazón: a mi padre y mis hermanos por alegrarme los días, a mi tía Mirtha y Mercedita por todo cuanto han hecho por mí y, a ti Emma Sophia, por tu comprensión, tu paciencia y tu gran amor, eres el sol de mis días.

Abreviaturas

A(H1N1)pmd09	Cepa pandémica H1N1 de 2009
ARDS	Síndrome de distrés respiratorio agudo
CARD	Dominio N-terminal reclutador de caspasas
CPT-II	CarnitinaPalmitoiltransferas-II
CRM1	Región de mantenimiento cromosómico-1/Exportina 1
CXCL9	Monoquina Inducible por Interferón- γ
CXCL10	Proteína Inducible por Interferón 10
ECDC	Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades
ED	Dominio Efector
eIF2AK2	Factor Eucariótico Iniciado de la Traducción 2-alpha Kinasa 2
FAP	Factor activador de plaquetas
HA	Hemaglutinina
HPAI	Virus de la gripe aviar de alta patogenicidad
IFITMP3	Proteína transmembrana inducible por interferón 3
IRF3	Factor Regulador de Interferón-3
LPAI	Virus de la gripe aviar de baja patogenicidad
M1	Proteína de la matriz 1
M2	Proteína de la matriz 2
MAVS/IPS Interferón	Proteína de Señalización Mitocondrial/Estimulador del Promotor de Interferón
MyD88	Proteína de respuesta primaria y diferenciación mieloides 88
MxA	Proteína de resistencia a Orthomixovirus
NA	Neuraminidasa

NEP/NS2	Proteína exportadora nuclear/Proteína no estructural 2
NLR	Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors
OAS	2'-5' Oligoadenilatosintasa
PA	Polimerasa ácida
PAB-II	Proteína de Unión de Poliadenilación 2
PAMPs	Patrones moleculares asociados a patógenos
PB1	Polimerasa Básica 1
PB2	Polimerasa Básica 2
PI3K	Fosfatidilinositol 3 kinasa
PKR	Proteína kinasa activada por ARN
RBD	Dominio de unión al ARN
RIG-I	Gen Inducible por Ácido Retinoico
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RNP	Ribonucleoproteínas
TRIM25	Tripartite Motif Protein Family

Índice

1. Resumen

2. Introducción

2.1 Objetivo del trabajo

3. Virus de la gripe

3.1 Clasificación

3.2 Estirpes y cepas

3.3 Morfología y estructura

3.3.1 Hemaglutinina

3.3.2 Neuraminidasa

3.3.3 Proteína M2

3.3.4 Proteína M1

3.3.5 Las Ribonucleoproteínas

3.3.6 Proteína PB1

3.3.7 Proteína PB2

3.3.8 Proteína PA

3.3.9 Nucleoproteína

3.4 Ciclo de vida

3.4.1 Unión

3.4.2 Entrada y Fusión

3.4.3 Entrada de las ribonucleoproteínas al núcleo

3.4.4 Síntesis de ARN: síntesis del promotor de ARN, la transcripción y replicación del genoma viral

3.4.5 Ensamblaje, "budding" y liberación.

3.5 Factores de virulencia

3.5.1 Proteína NS1

3.5.2 Proteína PB1-F2

3.6 Evolución

3.6.1 Mutaciones

3.6.2 Recombinaciones o “reassortments”

4 Epidemiología

4.1 Gripe estacional

4.2 Gripe pandémica

4.2.1 Pandemia de 1918 o Española

4.2.2 Pandemia de 1957 o Asiática

4.2.3 Pandemia de 1968 o de Hong Kong

4.2.4 Pandemia de 2009 o gripe porcina

4.2.5 Amenazas de las cepas H5N1 y H7N9

5 Aspectos clínicos

5.1 Patogénesis

5.2 Diagnóstico

5.3 Prevención

5.4 Tratamiento

5.4.1 Inhibidores de la proteína M2

5.4.2 Inhibidores de la NA

5.4.3 Medidas de soporte

5.5 Inmunidad

5.5.1 Inmunidad innata

5.5.2 Respuesta inmune adaptada: inmunidad mediada por células e inmunidad mediada por anticuerpos

5.6 Vacunas

6 Perspectivas

7 Conclusiones

8 Bibliografía

1. Resumen

El virus de la gripe pertenece a la familia Orthomyxoviridae, género Orthomyxovirus, y posee tres tipos: A, B y C. Los géneros A y B sufren mutaciones puntuales en sus glicoproteínas de membrana, hemaglutininas (HA) y neuraminidasas (NA), que son responsables de las epidemias anuales y de que sea necesario desarrollar vacunas nuevas para hacer frente a ellas. El género de la gripe C es antigénicamente estable, por lo que carece de potencial para desarrollar epidemias. Por su parte, el virus de la gripe A es el único capaz de intercambiar segmentos de su ARNv con otra cepa del mismo género, lo que conlleva la posibilidad de emergencia de una cepa viral potencialmente pandémica, ya que la población no posee inmunidad frente a ellas.

El virus de la gripe une su HA a los gliconcojugados que poseen ácidos siálicos de la membrana de la célula huésped. La transcripción y replicación viral se producen en el núcleo celular, mientras que el ensamblaje, "budding" y liberación de los viriones se produce en la región apical de la membrana plasmática.

La transmisión se produce por vía respiratoria, a través de secreciones cargadas del virus, aunque el contacto directo con los enfermos o a través de fómites aparenta ser otra vía de transmisión. A pesar de ser el causante de una de las infecciones que más comúnmente afectan al ser humano, puede ser mal estimado el impacto real del virus de la gripe, ya que su presentación puede ser muy variada e imitar otras infecciones respiratorias. El síndrome gripal incluye fiebre, malestar general, mialgias, tos, entre otros signos y síntomas. La complicación más frecuente es la neumonía secundaria.

En los últimos cien años cuatro pandemias han ocurrido, siendo la primera y más mortífera la de 1918 con saldo de aproximadamente 50 millones de muertes. Las tres pandemias siguientes en 1957, 1968 y 2009 fueron causadas por cepas recombinadas que portaban uno o más segmentos de ARNv de este "progenitor". Cada una de ellas con una mortalidad menor a la de anterior.

El diagnóstico es sugerido por la presentación clínica, y la confirmación puede obtenerse a través la identificación del ARNv por medio de "RT-PCR", la detección por inmunofluorescencia en muestras clínicas, análisis inmunocromatográficos (pruebas rápidas), el aislamiento del virus en cultivo celular o en huevos fertilizados, entre otras técnicas moleculares.

En la actualidad existen dos grupos de antivirales aprobados para el tratamiento farmacológico del virus de la gripe: los inhibidores de la proteína M2: amantadina y rimantadina, y los inhibidores de la NA: oseltamivir, zanamivir, peramivir y laninamivir.

2. Introducción

La gripe es una enfermedad zoonótica respiratoria aguda causada por los virus de la gripe A, B y C, siendo el virus de la gripe A responsable de la infección y muerte de cientos de miles de personas en todo el mundo cada año (Jernigan & Cox, 2013). Sin embargo, aunque la infección por el virus de la gripe es reconocida como una causa mayor de morbi-mortalidad en varias regiones del mundo, existen regiones en las que se desconoce su epidemiología e impacto real debido a que carecen de vigilancia virológica. En el año 2008 la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó 20 millones de casos de infección por el virus de la gripe sólo en niños menores de 5 años (Nair et al., 2011).

Es precisamente a través de la “vigilancia global del virus de la gripe”, iniciada por la OMS en 1952, que se obtiene la información necesaria sobre la actividad viral, los cambios antigénicos que sufren las cepas circulantes, la emergencia de cepas nuevas que cruzan la barrera de las especies y representan un potencial pandémico si adquieren la habilidad de mantener la transmisión sostenida entre los humanos y, la reemergencia de cepas previamente circulantes que incorporan segmentos de su ARNv por medio de recombinaciones genéticas con otras cepas, como es el caso de la A(H1N1)pmd09 responsable de la última pandemia sufrida en 2009. Gracias a esta vigilancia epidemiológica es posible la producción de vacunas cada año frente a las cepas circulantes que han sufrido mutaciones puntuales en sus determinantes antigénicos, las glicoproteínas HA y NA.

2.1 Objetivos del trabajo

- Estudiar las características intrínsecas y los factores de virulencia del virus de la gripe que le permiten adaptarse a diferentes huéspedes y cruzar la barrera de las especies, favorecer la replicación viral e impedir una respuesta inmune eficiente frente al virus.

- Analizar las cepas que produjeron las cuatro últimas pandemias y los datos epidemiológicos de dichos sucesos.
- Evaluar el impacto y repercusiones que el virus de la gripe ejerce sobre la salud pública y valorar las medidas preventivas implementadas en el momento actual para disminuir dichas repercusiones.

3. Virus de la gripe

3.1 Clasificación

Los virus de la gripe o en inglés Influenza pertenecen a la familia Orthomyxoviridae, la cual se compone de 5 géneros: los virus de la gripe A, B y C, Thogovirus e Isavirus. Esta familia se caracteriza porque sus virus presentan un genoma de ARN segmentado, de cadena simple y en sentido negativo, es decir, complementario al ARNm (Palese & Shaw, 2007).

Una característica importante que poseen los tres géneros de virus de la gripe A, B y C, es que pueden intercambiar y mezclar su información genética con cepas de su mismo género, no siendo así entre otros virus.

3.2 Estirpes y Cepas

Los tres géneros del virus de la gripe A, B y C se diferencian en sus propiedades inmunológicas y biológicas. Estructuralmente, los virus de la gripe A y B poseen ocho segmentos de ARN, mientras que el virus de la gripe C contiene siete segmentos de ARN. Las cepas de estos virus son designadas siguiendo una nomenclatura establecida: iniciando por el género al que pertenecen, seguido de la especie de la cual se ha aislado, omitida si es humana, lugar de aislamiento, número asignado al aislamiento, año del aislamiento, y en el caso del género A, los subtipos de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA), dos glicoproteínas del virus de las cuales se hablará más adelante. En el momento actual se conocen 18 subtipos distintos de Hemaglutinina (de H1 a H18) y 11 subtipos distintos de Neuraminidasa (de N1 a N11) para la gripe A y B (Palese & Shaw, 2007).

Es el género de la gripe A el que más comúnmente produce infección en los humanos y el que mayor repercusiones clínicas causa, por lo que este trabajo se centra en él.

3.3 Morfología y estructura (virus de la gripe o Influenza A)

El virus de la gripe A posee una membrana lipídica derivada de la célula infectada, y es en esta envoltura donde el virus alberga la HA, la NA, y la proteína M2 o canal iónico, según se muestra en la figura 1. Las HA y NA se proyectan desde la superficie del virus con una longitud aproximada de 10 a 14 nm, confiriendo a la partícula viral la característica de tener espículas o picos. Los virus de la gripe en su mayoría tienen morfología esférica con un diámetro aproximado de 100 nm. Sin embargo, han sido observadas partículas virales de estructura elongada, sobre todo en aislamientos frescos, por lo que se considera que son virus pleomorfos. Se ha visto que la variabilidad morfológica del virus juega un papel importante en el mecanismo por el cual se internaliza en la célula hospedadora. Brevemente, las partículas virales esféricas se internalizan por endocitosis mediada por receptores a través de vesículas revestidas de clatrina, representando aproximadamente el 70 % de las vías de endocitosis utilizadas por los virus de la gripe. El 30 % restante corresponde a las partículas filamentosas y elongadas, las cuales usan la endocitosis no mediada por clatrina/caveolas y la endocitosis dinamina-independiente (Nayak et al., 2013)(Nayak, Shivakoti, Balogun, Lee, & Zhou, 2013) (Fig. 2).

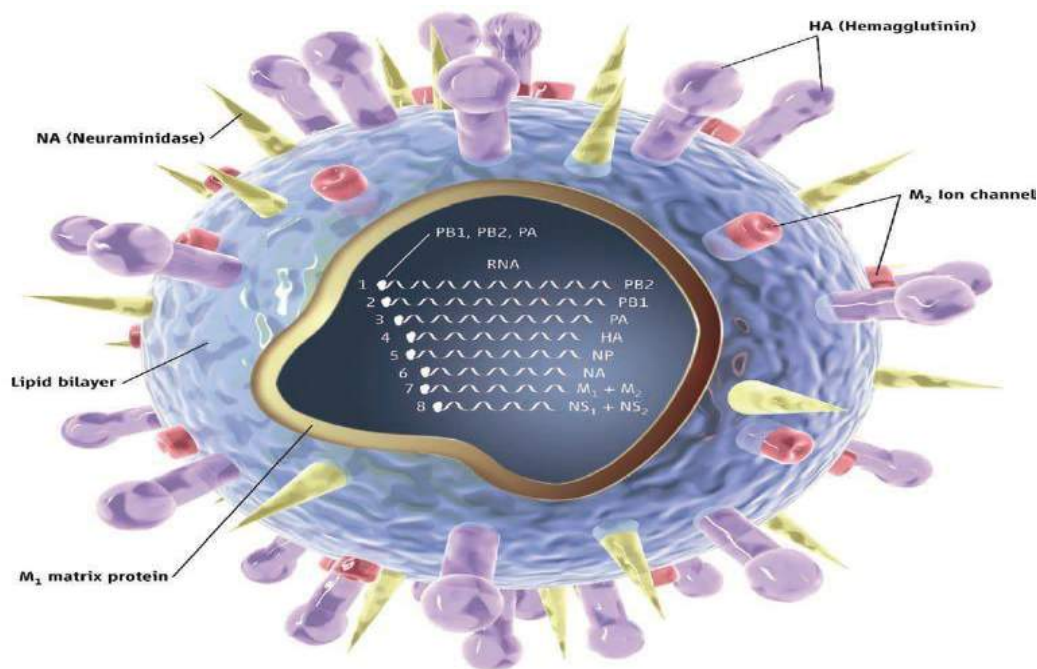


Fig. 1 Estructura esférica del virus de la gripe mostrando sus glicoproteínas de superficie, proteínas estructurales y RNP. Tomada del manual de diagnóstico por laboratorio y vigilancia virológica del virus de la gripe de la OMS, disponible en http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/manual_diagnosis_surveillance_influenza/en/

Debajo de la envoltura lipídica se encuentran la proteína de la matriz (M1) y la nucleocápsida, formada por el complejo de la ribonucleoproteína (RNP) que encapsulan el ARN, y que están sostenidas por la M1.

El complejo de RNP se compone por ocho segmentos de ARN viral (ARN_v), envueltos por la nucleoproteína (NP) y el complejo de la polimerasa: polimerasa básica 1 (PB1), polimerasa básica 2 (PB2) y polimerasa ácida (PA), que se unen parcialmente a los extremos complementarios del ARN_v. Además, se encuentra la proteína exportadora del núcleo/ proteína no estructural 2 (NEP/NS2) (Palese & Shaw, 2007). Por otro lado, la partícula viral está constituida en su totalidad por un 1 % de ARN, 5-8 % de hidratos de carbono, 20 % de lípidos en la envoltura, y aproximadamente 70 % de proteínas.

3.3.1 Hemaglutinina

La hemaglutinina, llamada así por su capacidad de aglutinar hematíes, es la proteína mayoritaria de la envoltura viral, representando aproximadamente un 80 %. Es una glicoproteína integral de membrana tipo I, trimérica y en forma de bastón. La HA es codificada por el segmento 4 del ARN_v, y se sintetiza como un precursor HA0 que se activa por proteólisis en dos subunidades: HA1 y HA2. Su estructura se caracteriza por tener un tallo fibroso constituido por una hebra triple y enrollada, formada por tres partes de HA2 en la molécula y, una cabeza globular, la cual también contiene tres dominios cuyas secuencias derivan de las porciones de HA1 y es aquí donde se encuentra el sitio de unión al receptor de la célula huésped, moléculas de la superficie celular que contienen ácidos siálicos.

La fusión de la membrana viral y la membrana del endosoma es otra de las funciones determinantes de la HA y se lleva a cabo a pH ácido, mediada por el péptido de fusión, que se proyecta desde el extremo N- terminal de la subunidad HA2 después que la HA0 ha sufrido el corte proteolítico, ver Fig. 2.

La HA es también el factor antigénico de mayor reconocimiento por el sistema inmune del huésped a través de su epítomos.

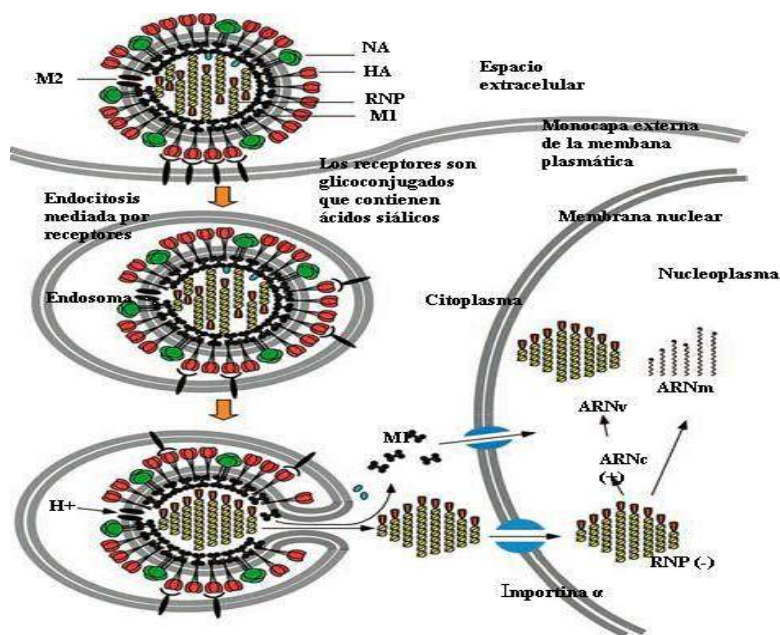


Fig. 2. Procesos de endocitosis y fusión de las membranas del virus de la gripe. Tomada de Nayak et al., 2013.

3.3.2 Neuraminidasa

La neuraminidasa es la segunda glicoproteína más abundante en la superficie del virus de la gripe A y B, representando aproximadamente el 17 % de éstas. Es codificada por el segmento 6 del ARNv y es una proteína integral de membrana tipo II. La función principal de la NA es cortar los ácidos siálicos, de ahí su nombre, de la superficie de la célula huésped. Es decir, la NA y la HA reconocen el mismo sitio de unión en la célula, siendo sus funciones opuestas: la HA se une a éstos, mientras que la NA los corta para prevenir el reconocimiento de la HA durante la salida del virus. Su función es la de liberar el virus de la membrana celular para favorecer la diseminación viral.

3.3.3 La proteína M2

La M2 o canal iónico es una proteína tetramérica integral de membrana codificada por el segmento 7 del ARNv. Es la menos abundante de todas las proteínas del virus, con aproximadamente 16-20 moléculas por cada virión. El dominio interno contiene cuatro hélices que están sujetas a un ángulo de la doble capa lipídica y que forman un poro, y es a este poro donde se une la Amantadina y la Rimantadina, antivirales de los que hablaremos más adelante. La función de la porción externa de esta proteína no está totalmente clara; sin embargo, se sabe que posee secuencias altamente conservadas, por lo

que es considerada como la región clave para el desarrollo de una vacuna universal contra los virus de la gripe (Palese & Shaw, 2007).

La principal función de la proteína M2 es la de actuar como canales iónicos, los cuales conducen protones desde el endosoma ya acidificado hasta el interior del virus para separar el complejo de las RNP del resto de los componentes virales, y así completar la eliminación del revestimiento. Estos canales iónicos son ácido-dependientes y altamente selectivos para iones H⁺.

3.3.4 La proteína M1

La proteína M1 es la proteína más abundante del virión, también codificada por el segmento 7 del ARNv y se compone de dos dominios globulares, unidos a través de una región sensible a proteasas. Esta proteína se encuentra justo por debajo de la cubierta lipídica viral, desde donde interactúa con los extremos citoplasmáticos de las glicoproteínas HA y NA y con el complejo de las RNPs, formando un puente entre los componentes internos del virus y aquellos de la membrana externa (Palese & Shaw, 2007). Esta interacción de la proteína M1 con las RNPs y la proteína NEP/NS2, de la cual hablaremos más adelante, está vinculada a los procesos de exportación de las RNPs nacientes fuera del núcleo celular, de ensamblaje de los viriones en la región apical de la membrana plasmática y la posterior liberación o “budding” de los mismos, ya que se forma un complejo NEP-M1-RNP mediado por la exportina 1, también llamada región de mantenimiento cromosómico-1 (Crm1), la cual regula la salida de las RNPs (Nayak et al., 2013).

3.3.5 Las Ribonucleoproteínas: El complejo de la polimerasa y la NP

El complejo trimérico de polimerasa de ARN del virus de la gripe es un complejo proteico dependiente de ARN. Estas proteínas son sintetizadas por los tres segmentos mayores del ARN viral (Noble et al., 2011). El complejo se compone, como ya mencionamos, por: la PB2, sintetizada por el segmento 1, la PB1, sintetizada por el segmento 2, que a su vez sintetiza las proteínas PB1-F2, la cual actúa como factor de virulencia proapoptótico, y PB1-N40, variación de la PB1 en su N-terminal truncado; y la PA, sintetizada por el segmento 3, que también sintetiza la proteína PA-X por diferentes fases de lectura abierta

o "frameshifting", proteína que actúa como un modulador de virulencia (Nayak et al., 2013) (Fig. 3).

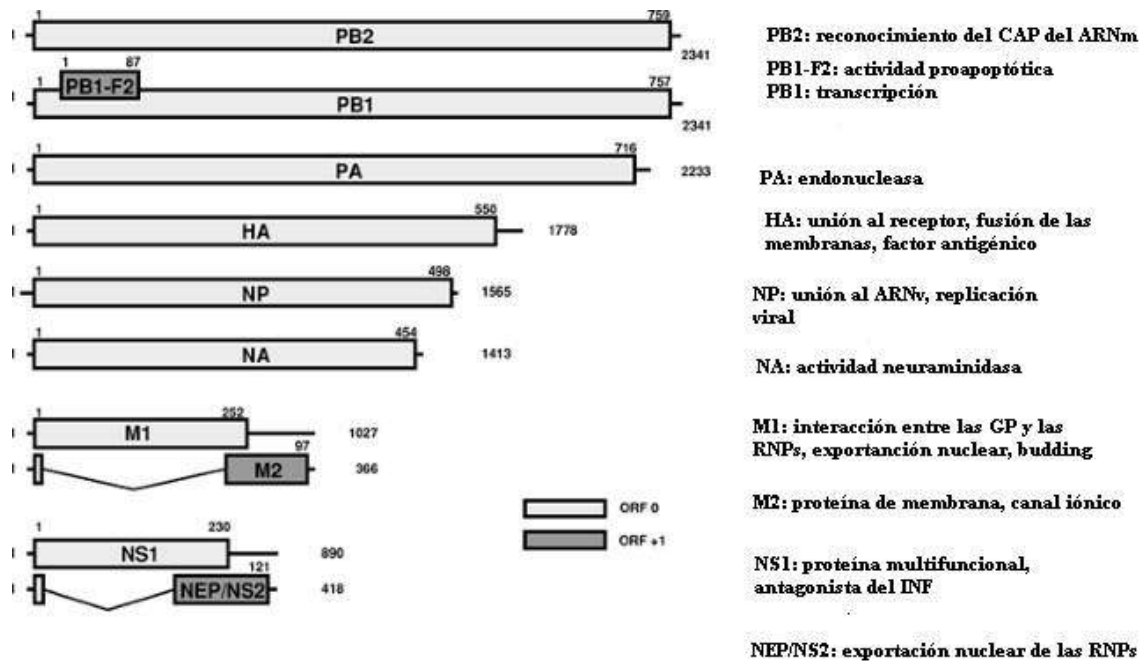


Fig. 3. Estructura genómica del virus de la gripe A/Puerto Rico/8/34. El segmento correspondiente a la subunidad PB1 contiene una segunda fase de lectura abierta "Open Reading Frame (ORF) que codifica para la proteína PB1-F2; mientras que las proteínas M1/M2 son codificadas por el mismo segmento mediante el proceso de empalme alternativo. Tomado de Palese & Shaw, 2007.

Las tres subunidades del complejo de la polimerasa están estrechamente asociadas para formar una estructura compacta, siendo que la proteína PB1 une su extremo N-terminal al extremo C-terminal de la proteína PA, acoplándose a una hendidura altamente conservada en la PA, formando lo que se denomina "jaw in the head of a dragon"; mientras que uno de sus extremos C-terminal al extremo N-terminal de la proteína PB2. El complejo está unido a cada uno de los 8 segmentos del ARNv.

3.3.6 La proteína PB1

La proteína PB1 es la polimerasa dependiente de ARN que regula el inicio de la síntesis de ARNv. Una vez en el núcleo une su extremo N-terminal a ambos extremos 5'-terminal y 3'-terminal del ARNv, generando a través de esta interacción, un cambio conformacional en él, formando una estructura serpenteada, que sirve como promotor para el inicio de la transcripción y replicación viral (Noble et al., 2011).

3.3.7 La proteína PB2

La proteína PB2 es la encargada de iniciar del proceso de "cap-snatching", uniendo su extremo C-terminal al cap 7-methylguanosina del extremo 5'-terminal de las moléculas de pre-ARNm de la célula huésped. Estos segmentos de ARNm celular serán usados como "primer" en la replicación y transcripción del ARNv. El reconocimiento de esta molécula depende de la adición del promotor de ARN vía la proteína PB1, y en la unión a ella están implicados dos residuos aromáticos, Phe363 y Phe404, los cuales forman un sándwich aromático con el cap. Esta unión es de vital importancia para evitar la degradación de la molécula por la 5' exonucleasa (Fechter et al., 2003).

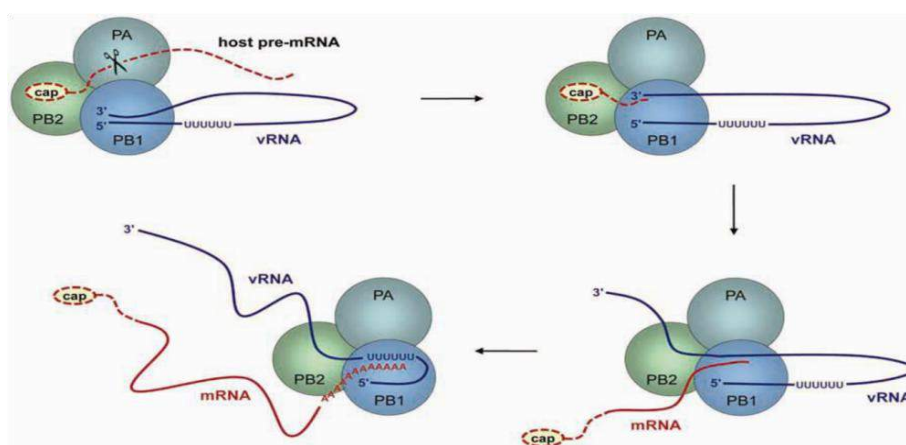


Fig. 4. Mecanismo de síntesis de ARNm viral. Tomada de (Krug & Fodor, 2013)

Brevemente, la proteína PB2 es necesaria para generar una cadena de ARN (+) a partir de su propio ARN (-), para la transcripción y posterior traducción del ARNv a nuevas proteínas que servirán para la replicación de más ARNv necesario para los futuros viriones (Fig. 4)

3.3.8 La proteína PA

La proteína PA es, de las tres subunidades del complejo de la polimerasa, la que ejerce la actividad endonucleasa, cortando 10-13 nucleótidos de molécula del pre-ARNm, para que sirva de "primer" para la transcripción del ARNv. Esto es necesario para "robar" el pre-ARNm de la célula huésped, una vez el cap 7-methylguanosina haya sido reconocido y esté unido a la proteína PB2, tras lo cual la transcripción será realizada por la PB1. El sitio activo de la proteína PA se encuentra en su extremo N-terminal (Boivin, Cusack, Ruigrok, & Hart, 2010)(Boivin et al., 2010).

3.3.9 La Nucleoproteína

La NP es codificada por el segmento 5 del ARNv. Es una molécula en forma de media luna con dos dominios principales denominados como "la cabeza" y "el cuerpo" de esta estructura, además posee una pequeña "cola" circular. Esta proteína se une al ARNv a intervalos regulares de 24 nucleótidos en toda la cadena del ácido nucleico. El sitio de unión lo forman los dos dominios mayores en la superficie externa de la molécula como un pequeño agujero o hendidura, pero debido a su ubicación externa el ARNv queda susceptible a la digestión por las ribonucleasas.

3.4Ciclo de vida

3.4.1 Unión

Los virus de la gripe se unen a los ácidos siálicos que se encuentran en la superficie de la célula huésped, a través de la HA. Esta unión está limitada por la especificidad que las HA poseen hacia el tipo de unión que tienen estos monosacáridos a los glicoconjugados, lo cual es de alta importancia en el tropismo del virus por las distintas especies, la zoonosis, transmisión y pandemias. Los virus de procedencia humana reconocen los ácidos siálicos de las glicoproteínas y glicolípidos con uniones $\alpha(2,6)$, mientras que los virus aviares reconocen aquellos en los glicoconjugados con uniones $\alpha(2,3)$. Los virus de origen porcino pueden reconocer ambos tipos de enlace (Palese & Shaw, 2007). Sin embargo, esta especificidad no es absoluta. Además, el virus tiene la habilidad mutar para adecuar el lugar de unión al receptor de su HA y adaptarse a un nuevo huésped (Nayak et al., 2013).

A partir de la pandemia de 1918 se ha logrado demostrar que la especificidad de unión del virus de procedencia aviar puede cambiar por mutación de un solo aminoácido para lograr unirse a un receptor humano (Neumann & Kawaoka, 2013); Palese & Shaw, 2007).

3.4.2 Entrada y Fusión

Después de la unión al receptor, el virus es internalizado por endocitosis, (Fig. 2). Un pH ácido, de aproximadamente 5 a 6, es necesario en el endosoma para disparar la fusión entre la membrana del virus y la membrana del endosoma, y para abrir el canal iónico de la proteína M2 y disociar la proteína M1 de las RNP, liberando estas últimas al citoplasma

de la célula, a través de un poro formado por moléculas de HA que se agrupan, y por las colas citoplasmáticas de la HA, NA y M2. La disociación entre la proteína M1 y las RNP debe ocurrir antes de que se complete la fusión de las membranas para evitar que el pH neutro del citoplasma las diluya y neutralice el interior del virión. La fusión de las membranas está mediada por la subunidad HA2 que se activa a pH ácido y expone el péptido de fusión que se introduce en la membrana diana, llevando la membrana del endosoma a una yuxtaposición con la membrana viral, consiguiendo de esta forma la fusión. Luego, las RNP son atraídas hacia el núcleo.

3.4.3 Entrada de las RNP al núcleo

Las RNPv deben entrar en el núcleo de la célula huésped para que se lleve a cabo la transcripción y replicación del ARNv, siendo esto una característica peculiar de los virus de la gripe, ya que la mayoría de los virus de ARN realizan la replicación en el citoplasma de la célula huésped.

El transporte de las RNPv hacia el núcleo se lleva a cabo a través de la unión de la proteína PB2, por medio de su C-terminal, al centro de la importina humana $\alpha 5$, también llamada karioferina α , formándose un complejo con secuencia de localización nuclear que es reconocido por los receptores de la membrana del núcleo. Una vez allí servirán de modelo o plantillas para su transcripción en RNA (+); nuevas proteínas son sintetizadas por el ARNm, y el genoma viral ARNv (-) es replicado a través de un intermediario (ARNc).

3.4.4 Síntesis de ARN: el promotor de ARN, la transcripción y replicación del genoma viral

Cada uno de los ocho segmentos de ARN del virus de la gripe A, B y C contienen secuencias no codificantes de 13 nucleótidos en su extremo 5'-terminal y de 12 nucleótidos en su extremo 3'-terminal. Estas secuencias cortas y parcialmente complementarias son las que forman el promotor, necesario para la unión de las polimerasas y el subsecuente inicio de la replicación viral (Noble et al., 2011) (Fig. 4). Existen varias propuestas para la estructura exacta del promotor, siendo una de las más aceptadas la estructura "Panhandle", en la cual el ARNv posee una configuración circular y el promotor está ordenado en una de doble cadena formada por las secuencias

no codificantes, parcialmente complementarias, y conservadas en los extremos 5' y 3' terminales de cada molécula de ARNv (Palese & Shaw, 2007). Por otro lado, análisis mediante espectroscopía RMN han sustentado la propuesta de una estructura en sacacorchos "corkscrew", en la cual estas regiones no codificantes son de cadena sencilla y se aparean entre sí para formar una hoquilla.

Después de que las RNPv entran en el núcleo, el ARNv (-) debe pasar a ARN (+) para poder ser replicado y transcrito, puesto que el ARNv (-) no puede ser traducido directamente a proteínas. En estos procesos claves para la perpetuación del virus es donde interviene el complejo de la polimerasa del virus, como ya se mencionó. Siendo que el complejo de la polimerasa roba y utiliza los transcritos de pre-ARNm de la célula huésped para iniciar la transcripción del ARNm del propio virus (Palese & Shaw, 2007) (Fig. 4).

Los procesos se inician, cuando la proteína PB2 se une al cap 7-methylguanosina 5' del pre-ARNm de la célula, el cual es cortado por la PA tras 10-13 nucleótidos, resultando en un oligonucleótido que servirá de primer para iniciar la transcripción del ARNv. La transcripción se hace por copia directa de la plantilla de ARNv, elongándolo hasta donde llega la señal de poliadeninación en el extremo 3'-terminal por un mecanismo de tartamudeo en el terminal UUU de la plantilla. Como consecuencia se obtiene un ARNm en sentido positivo, con cap en el extremo 5'-terminal y poliadeninación en el extremo 3'-terminal, semejante al propio ARNm de la célula, lo que favorece su reconocimiento por los ribosomas, donde se llevará a cabo su traducción a proteínas (Boivin et al., 2010).

El virus de la gripe tiene la capacidad de codificar dos proteínas a partir de un solo gen mediante un proceso de maduración o empalme alternativo de su ARNm. Los segmentos 7 y 8 del ARNv son los que codifican las proteínas provenientes tanto de ARNm maduro como de ARNm no maduro. Específicamente los ARNm maduros de los segmentos 7 y 8 codifican para la proteína M1 y la proteína NS1, respectivamente, mientras que los ARNm no maduros provenientes de los mismos segmentos genómicos codifican las proteínas M2 y NEP/NS2, respectivamente (Fig. 3). La maduración o empalme del ARNm viral debe ser relativamente ineficiente, ya que las proteínas del virus deben ser expresadas por ambas formas del ARNm viral.

La exportación del ARNm hacia el citoplasma para la posterior traducción es llevada a cabo por la proteína NEP, posiblemente por una vía dependiente de la exportina 1 o

CRM1, y una vez formadas, las nuevas polimerasas virales son transportadas de regreso al núcleo donde son ensambladas. Durante el proceso de ensamblaje de los nuevos complejos proteicos la PB1 y la PA forman un dímero, mientras que la PB2 migra de manera independiente para unirse al dímero ya estando dentro del núcleo, mientras que la NP libre, después de entrar al núcleo, interacciona directamente con el ARNc y lo encapsula para asegurar el proceso de replicación, así como también interactúa con el complejo de la polimerasa, siendo la relación de 9 monómeros de NP por cada trímero de polimerasa que haya sido traducido.

Por otro lado, el proceso de replicación del ARNv se produce en dos etapas y es dependiente de proteínas nuevas que hayan sido traducidas, ya que durante la primera etapa el ARNv (-) es copiado a un ARNc (+) que servirá como plantilla para la síntesis de nuevo ARNv (-) durante la segunda etapa. Contrario a la transcripción, el proceso de replicación no necesita de un primer para iniciarse en ninguna de sus dos etapas, pero, al igual que en ella, la proteína PB1 se une a los dos extremos terminales del ARNv y cataliza su extensión, pero esta vez la cadena del ARNv es copiada completamente, ya que la señal de poliadeninación en el extremo 3' terminal es sobrepasada. Los nuevos segmentos de ARNv que han sido generados servirán como plantillas para la síntesis de más ARNm durante la transcripción, o, la NP puede unirse a ellos y formar RNPs que serán exportadas al citoplasma para ser ensambladas en los nuevos viriones (Crow, Deng, Addley, & Brownlee, 2004).

3.4.5 Ensamblaje, "budding" y liberación

Después de ser plegadas y glicosiladas en el retículo endoplasmático, la HA, NA y M2 (la cual no es glicosilada), son transportadas, junto a los demás componentes virales, hasta la región apical de la membrana plasmática de la célula, donde se efectúa el ensamblaje, gemación y posterior "budding" de los viriones (Nayak et al., 2013). Durante el proceso de budding los viriones son recubiertos de una envoltura lipoproteica derivada de la membrana plasmática celular antes de ser liberados al espacio extracelular. Este proceso es regulado por la proteína M1, que se acumula en la monocapa interna de la bicapa lipídica, provocando una curvatura de la membrana plasmática necesaria para el recubrimiento de los viriones (Palese & Shaw, 2007).

3.5 Factores de virulencia y mediadores de la respuesta inmune:

3.5.1 La proteína NS1

La proteína no estructural 1 (NS1) es una proteína dimérica nuclear, que posee la capacidad de unirse a ARN de doble cadena (dsRNA) viral (Palese & Shaw, 2007). Es codificada por el segmento 8 del ARNv y se compone de dos dominios funcionales, esto es, un N-terminal que se une al ARN (RBD), y un C-terminal que actúa como dominio efector (ED) (Krug & García-Sastre, 2013). Este dominio C-terminal ha sido denominado como un dominio modulador, ya que se han identificados en él cuatro motivos conservados que incrementan la virulencia en especies concretas, es decir, motivos de adaptación al huésped (Soubies et al., 2010) que se unen a dominios PDZ. Estos son: RSKV, GPEV, ESEV y RPKV, estando ESEV altamente conservado en los virus de la gripe aviar tipo A, mientras que RSKV lo está en los virus de la gripe humana tipo A. La unión a estos dominios PDZ puede afectar la regulación de la apoptosis, lo cual contribuye a un aumento de la patogenicidad (Neumann & Kawaoka, 2013).

Su importancia mayor radica en su capacidad de inhibir potentemente la respuesta inmunitaria del huésped mediante varios mecanismos. Normalmente el dsRNA adyacente al 5'ppp que expone el virus es el mayor inductor de interferón por las células infectadas como respuesta inmediata a la invasión viral. Esta estructura secundaria del ARNv es reconocida por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) que se encuentran en el citoplasma de la célula (resumido en la figura 13) (Garcíasastre, 2001), y cuya función es la de distinguir el ARN celular del ARN de patógenos invasores. Entre estos PRR destacan el Gen Inducible por Ácido Retinoico (RIG-I), la proteína quinasa activada por ARN (PKR), también conocida como quinasa 2-factor eucariótico de iniciación de la traducción 2-alfa (eIF2AK2) y la 2'-5' Oligoadenilatosintasa (OAS) (Gack et al., 2009). Así, una de las vías que utiliza la proteína NS1 para evitar el reconocimiento del dsRNA es la de unirse a él a través de su RBD, que forma un homodímero de 6 hélices, imprescindible para dicha interacción y posterior secuestro del dsRNA, evitando que sea identificado por los PRR (Krug & García-Sastre, 2013).

Por otro lado, la proteína NS1 también bloquea la respuesta inmune inactivando directamente los PRR. Brevemente, RIG-I al reconocer y unirse al dsRNA activa una cascada de señalización resultando en la inducción de citoquinas inmunomoduladoras de la familia del Interferón tipo I (INF- α e INF- β) (Matsumiya & Stafforini, 2010) y la subsecuente inducción de proteínas antivirales como la proteína de resistencia a

Orthomixovirus, conocida como ‘‘MxAGTPasa’’ y STAT1 y STAT2. Esto es, RIG-I activado expone su dominio N-terminal reclutador de caspasas (CARD) para que éste sea poliubiquitinado por las ligasas de ubiquitina ‘‘Tripartite Motif Protein Family (TRIM25)’’ y/o RIPLET, tras lo cual se oligomeriza y se asocia con la proteína de señalización antiviral mitocondrial (MAVS), también conocida como estimulador del promotor de interferón- β 1 (IPS-1), formando un complejo de señalización que activa al factor regulatorio de interferón 3 (IRF3) y el NF- κ B, factores de transcripción necesarios para la transcripción del interferón en el núcleo celular (Krug & García-Sastre, 2013). La proteína NS1 es capaz de inhibir esta cascada de señalización antiviral interactuando directamente con RIG-I e inactivarlo. Todo esto es dependiente de la cepa viral, ya que no todas las NS1 tienen esta capacidad, estando implicado en esta variación entre las especies su ED (Krug & García-Sastre, 2013). A su vez, la inhibición mediada por la proteína NS1 de otras proteínas antivirales citoplasmáticas, como la PKR y la OAS inducidas por INF (de las que se hablará más adelante) es ejercida por unión directa a ellas.

Por último, otro de los mecanismos utilizados por la proteína NS1 es la inducción de la vía de la fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K). La proteína NS1 se une a través de su ED a la subunidad reguladora p85 β de la PI3K, la cual, en condiciones normales, mantiene inhibida la subunidad catalítica p110 de la PI3K. Esta PI3K activada es responsable de la regulación de varios procesos biológicos, entre ellos la apoptosis a través de la activación de Akt, y es precisamente la activación de esta vía PI3K/Akt por la NS1, la que le permite al virus retrasar la apoptosis de las células infectadas, prolongando así el tiempo de replicación (Krug & García-Sastre, 2013).

3.5.2 La proteína PB1-F2

La proteína PB1-F2 es sintetizada, como hemos mencionado, por el segmento 2 del ARN_v al igual que la proteína PB1 (Fig 3). Tiene dos dominios principales, esto es, un N-terminal desordenado, que simula una hebra de espagueti, y un dominio C-terminal catiónico e hidrofóbico. A pesar de no estar presente en todos los virus de la gripe (Palese & Shaw, 2007), tiene la capacidad de interactuar con la proteína sintetizada por el mismo segmento 2 PB1 y retrasar su exportación del núcleo, logrando incrementar la replicación viral.

Por otro lado, esta proteína ejerce un papel en la mediación de la respuesta inmune del hospedador similar al de la proteína NS1 como antagonista del INF, potenciando las coinfecciones bacteriana (Klen et al., 2013; Mehle & McCullers, 2013). El mecanismo propuesto es el de interferir con el complejo RIGI/MAVS, inhibiendo la activación del factor regulador del interferón “IRF-3”, lo que inhabilita la respuesta de inmunidad antimicrobiana innata que provee la familia del INF tipo I al hospedador. Esto se relaciona de manera directa con un aumento en la infiltración por neutrófilos y macrófagos en las vías aéreas, aumentando la mortalidad y patogenicidad de las neumonías bacterianas secundarias a infecciones por el virus de la gripe A.

Por último, esta proteína ha demostrado tener un papel regulador de la apoptosis de la célula huésped, permeabilizando la membrana mitocondrial, provocando la liberación de citocromo C (Palese & Shaw, 2007) hacia el citosol, y el inicio de la cascada proapoptótica mediada por las caspasas.

3.6 Evolución

La primera descripción de una infección respiratoria aguda y altamente contagiosa que hoy conocemos como gripe se remonta al año 412 AC cuando Hipócrates describió cómo el ejército ateniense fue aniquilado por dicha enfermedad; pero no fue hasta la primera mitad del siglo XX cuando se pudieron aislar los primeros virus en mamíferos, ya que en 1931 Shope & Lewis aislaron el primer virus de la gripe en cerdos, el A/SW/Iowa/30 y más tarde, en 1933 Smith & al. lograron aislar un virus de la gripe humana, el A/WS/33 (revisado en Monto & Webster, 2013). Hoy en día, gracias a las técnicas de genética inversa se han logrado caracterizar secuencias virales silvestres y mutantes de distintas cepas del virus de la gripe, y gracias a estudios filogenéticos se ha podido conocer su variabilidad genética con el paso de los años (Taubenberger et al., 2007; Taubenberger & Morens, 2006).

3.6.1 Mutaciones

El virus de la gripe, como todos los virus ARN, carece del mecanismo de reparación de su ácido nucleico o “proofreading” lo cual conlleva una alta tasa de mutaciones y permite la organización segmentada del genoma viral, facilitando las recombinaciones o reassortments (Reid & Taubenberger, 2003). Además, la falta de actividad exonucleasa de

su polimerasa aumenta su tasa de errores de transcripción aun más en comparación con otras polimerasas de ARN (Wang & Palese, 2013). Estos errores dan lugar a mutaciones que le permiten adaptarse a distintos huéspedes e incrementar su virulencia. Sin embargo, esto no es contante en todos los huéspedes del virus de la gripe, siendo la tasa de mutación menor en virus establecidos en huéspedes no humanos de vida corta, en los que se mantienen de manera estable, como es el caso de las aves acuáticas silvestres (Fouchier & Guan, 2013; Wang & Palese, 2013).

Algunas mutaciones importantes se dan en el complejo de la polimerasa viral, por lo que comenzamos por ellas: Una de las más estudiada, es la E627K en la **subunidad PB2** (Klenk et al., 2013; Shinya et al., 2004). Esta mutación es uno de los mayores determinantes patogénicos en los virus aviáres adaptados a huéspedes mamíferos o, del inglés, ‘high pathogenic avian influenza virus (HPAI)’. Además, se relaciona con el aumento de capacidad de replicación viral en las bajas temperaturas del tracto respiratorio superior (Neumann & Kawaoka, 2013).

Otra mutación que afecta a la subunidad PB2 es la D701N, también asociada a la adaptación de un virus aviar a un huésped mamífero y a un incremento de la unión de la subunidad PB2 a la importina α en mamíferos, aumentando su actividad polimerasa una vez en el núcleo, con el subsecuente aumento de la virulencia (Nayak et al., 2013, Klenk et al., 2013). Recientemente han sido identificadas, en cepas H5N1, dos mutaciones en la misma NLR de la subunidad PB2 donde se encuentra la D701N en el residuo 714, y que además contribuyen a la patogenicidad de este subtipo vírico. Estas mutaciones son S714R y S714I, habiéndose observado además que S714R promueve la adaptación de la cepa H7N7 a ratones (Czudai et al., 2014) .

A su vez, el cambio N319K en la **proteína NP** desestabiliza las señales de localización nuclear, potenciando la unión del complejo de las polimerasas a la importina $\alpha 1$ con las consecuencias ya mencionadas. Por otro lado, polimorfismos en la proteína **PB1-F2** están vinculados a un aumento de la virulencia en determinadas cepas virales, contribuyendo con el componente inflamatorio en respuesta al virus. Todos los virus de la gripe que afectan a humanos y que contienen la proteína PB1-F2 son virus que se han recombinado con un virus aviar (Nayak et al., 2013). Sin embargo, en la cepa pandémica A/H1N1/2009 la proteína PB1-F2 estaba truncada, por lo que se ha inferido que, aunque esta proteína

contribuya con un aumento de la virulencia debido a su interacción con el complejo inmune del hospedador, esta virulencia decae con el paso del tiempo, con la adaptación viral a mamíferos.

Las mutaciones también pueden ocurrir debido a la presión externa generada sobre el virus (Wang & Palese, 2013), como la inmunidad del huésped frente a la HA. Estos **cambios en la HA** son denominados “**antigenic drift**” y son los responsables de las epidemias de gripe en los períodos interpandémicos. La HA es el determinante antigénico que sufre mayor número de mutaciones al ser el blanco de los anticuerpos neutralizadores. Un mecanismo usado por el virus para adaptarse a huéspedes humanos es el de incrementar los sitios de N-glicosilación en la cabeza globular de la HA, para enmascarar sus epitopos y disminuir el reconocimiento por los dichos anticuerpos et (Reid et al., 1999).

Otro cambio en la HA relacionado con un aumento de la patogenicidad del virus de la gripe es la adquisición de un motivo de **reconocimiento por furina**, proteasa ubica y multicorte, lo cual incrementa el número de proteínas que sufren proteólisis, facilitando la exposición del péptido de fusión y potenciando así la fusión de la membrana viral con la membrana del endosoma que lleva a cabo la HA. Esto contrasta con los virus de la gripe de baja patogenicidad “LPAI”, los cuales son activados por proteasas presentes solo en el epitelio respiratorio o intestinal, para huéspedes mamíferos o aviares respectivamente (Klenk et al., 2013; Neumann & Kawaoka, 2013). Los virus de la gripe aviar se clasifican según a las características patológicas de la infección en las aves de corral, siendo que los virus de baja patogenicidad “low pathogenic avian influenza virus (LPAI)” causan infección asintomática o leve, mientras que los virus de alta patogenicidad “highly pathogenic avian influenza virus (HPAI)” causan infección sistémica provocando hemorragias internas, edema e isquemia cutánea frecuentemente (Klenk et al., 2013).

La adaptación a receptores humanos **NEU5A α 2,6** (ácidos siálicos con uniones α 2,6) por un virus de la gripe de origen animal es considerada una condición indispensable para que dicho virus pueda causar una pandemia (Neumann & Kawaoka, 2013). Mutaciones de importancia mayor involucrando la HA de la cepa H1N1 causante de la pandemia de 1918 fueron publicadas por Reid & Taubenberger en 2003. Este virus fue reconstruido por técnicas de genética inversa “RT-PCR” tras poder recuperarlo de cinco víctimas mortales de la pandemia en Estados Unidos y el Reino Unido (Taubenberger et al., 2005; Wang &

Palese, 2013). Tres de las cinco cepas aisladas, las A/South Carolina/1/1918, A/New York/1/1918 y A/Breg Mission/1/1918 presentaban la mutación E190D en el sitio de unión al receptor, lo que permitía la unión a receptores de mamíferos. Sin embargo, en la A/New York/1/1918 también se identificó la mutación D225G en el sitio de unión al receptor, permitiendo a esta cepa la unión tanto a receptores aviáres **NEU5Ac α 2,3** (ácidos siálicos con uniones α 2,3) como a receptores humanos NEU5A α 2,6. Esta es considerada como una de las causas de la alta tasa de letalidad durante esta pandemia, ya que se ha determinado a través de lectinas específicas la presencia de estos receptores NEU5Ac α 2,3 en los bronquiolos terminales humanos, permitiéndole al virus replicarse allí, con la consecuente respuesta inflamatoria inducida por el virus (Klenk et al., 2013), como veremos más adelante. Seguida en frecuencia de mutaciones están la NA y la proteína M2, proteínas que son la diana de los antivirales actualmente disponibles contra el virus de la gripe, según se verá más adelante.

3.6.3 **Recombinaciones o “reassortments”**

Se denomina “reassortment” al proceso de intercambio genético que conlleva la formación de una cepa viral nueva o “novel” tras la recombinación de segmentos genómicos de dos o más cepas distintas del virus de la gripe A, siendo una de ellas de origen animal, es decir, combinaciones de los 8 segmentos de ARN (ver Fig. 8) (Wang & Palese, 2013; Widdowson & Monto, 2013). Este proceso llamado “antigenic shift” genera nuevas glicoproteínas para las que la población tiene muy poca o ninguna inmunidad (Taubenberger et al., 2005; Monto & Webster, 2013) dando lugar a las epidemias y a las pandemias. Las aves acuáticas salvajes son el mayor reservorio del virus de la gripe A (Fouchier & Guan, 2013; Taubenberger et al., 2007), siendo que el virus puede adaptarse a distintos huéspedes (ver Fig. 5), y causar enfermedad en ellos; mientras que los cerdos son considerados recipientes de mezcla del virus de la gripe, ya que pueden ser infectados tanto por virus de la gripe humana como virus de la gripe aviar, facilitando las recombinaciones virales.

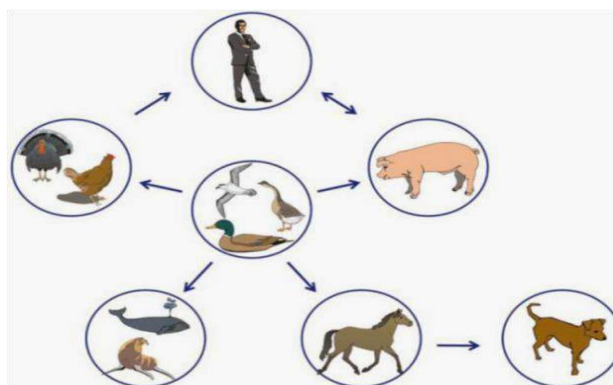


Fig. 5. Principales huéspedes del virus de la gripe A. Figura tomada de Fouchier & Guan, 2013.

4. Epidemiología

Según las diferencias en los patrones de infección y diseminación, grupos etarios afectados y la severidad de la infección podemos clasificar epidemiológicamente esta enfermedad en dos grupos: gripe estacional y gripe pandémica.

4.1 Gripe Estacional

La gripe estacional, también llamada interpandémica, debe su nombre a la alta incidencia de infecciones respiratorias agudas causadas por las cepas circulantes de gripe A o gripe B (Widdowson & Monto, 2013) durante las estaciones frías en las regiones de clima templado. Estas cepas pueden escapar la inmunidad del huésped cada año gracias al “antigenic drift”. Las bajas temperaturas ambientales y del epitelio respiratorio superior favorecen la infección por virus termolábiles como es el virus de la gripe. Además, la transmisión se ve potenciada durante esta estación, debido una mayor tendencia a permanecer en espacios cerrados y poco ventilados durante esta temporada (Taubengerger & Morens, 2006). Por el contrario, en regiones tropicales y subtropicales los picos de infección presentan patrones estacionales distintos (Fig. 6) por lo que se considera que el término gripe interpandémica es más apropiado. Países de gran territorio y que exhiben diferencias climatológicas dependientes de las zonas tienen distintos patrones estacionales regionales de brotes epidémicos, como es el caso de China.

En el período post pandémico la cepa dominante pasa a ser una cepa estacional y circula conjuntamente con las demás cepas de gripe A y B circulantes. En el momento actual las cepas de gripe A circulantes son H3N2 y A(H1N1)pmd09 junto a dos cepas de gripe B,

derivadas del linaje de la B/Yamagata/16/88 y del linaje de la B/Victoria/2/87 (OMS, 2014), disponible en

http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/virology_laboratories_and_vaccines/influenza_virus_infections_humans_feb14.pdf)



Fig. 6. Zonas de transmisión del virus de la gripe, OMS, 2011. La OMS ha diseñado estas zonas geográficas compuestas por grupos de países o regiones para identificar el patrón de transmisión del virus de la gripe en ellas. Algunas zonas con similitudes en sus patrones de transmisión comparten el mismo color. Disponible en http://www.who.int/csr/disease/swineflu/Influenza_transmission_zones.pdf?ua=1

La presentación de la gripe estacional puede ser muy variada, por lo que se ha desarrollado el término Infección Parecida a la Gripe “Influenza Like Infection (ILI)” para monitorizar el grado de actividad de la gripe estacional de manera indirecta, sin aislar el virus, también denominada vigilancia centinela. En la región norte el pico de ILI se inicia aproximadamente en noviembre y cae en los meses de abril a mayo, mientras que en la región sur la actividad se inicia en junio. En las regiones tropicales y subtropicales los picos de ILI son menos predecibles debido a variaciones de altura y humedad, y a las temporadas de lluvias.

El grupo etario más afectado por la gripe estacional es el formado por los niños, con una disminución en la incidencia proporcional al incremento en su edad. Sin embargo, la incidencia puede aumentar considerablemente en los adultos jóvenes debido al contacto directo con sus hijos, en contraste con los adultos mayores que suelen verse menos afectados debido a una gran inmunidad cruzada obtenida de múltiples infecciones anteriores y, debido también, a la falta de contacto con otros grupos de riesgo, aunque, las tasas de infección suelen aumentar en los ancianos que viven en hogares o residencias para mayores, debido a un sistema inmunitario ya deficiente y debido también al gran número de personas conviviendo juntas.

El virus de la gripe, en realidad, no es tan altamente transmisible como podría pensarse. De hecho, se ha podido calcular, a partir de estudios epidemiológicos, que el número de contactos completamente susceptibles a una infección por el virus de la gripe a partir de un solo caso es menor a 2 (Widdowson & Monto, 2013); la acumulación de personas en espacios cerrados, como son las escuelas, cárceles o residencias de ancianos, potencia la transmisibilidad del virus de la gripe. La actividad actual del virus se resume en la Fig. 7.

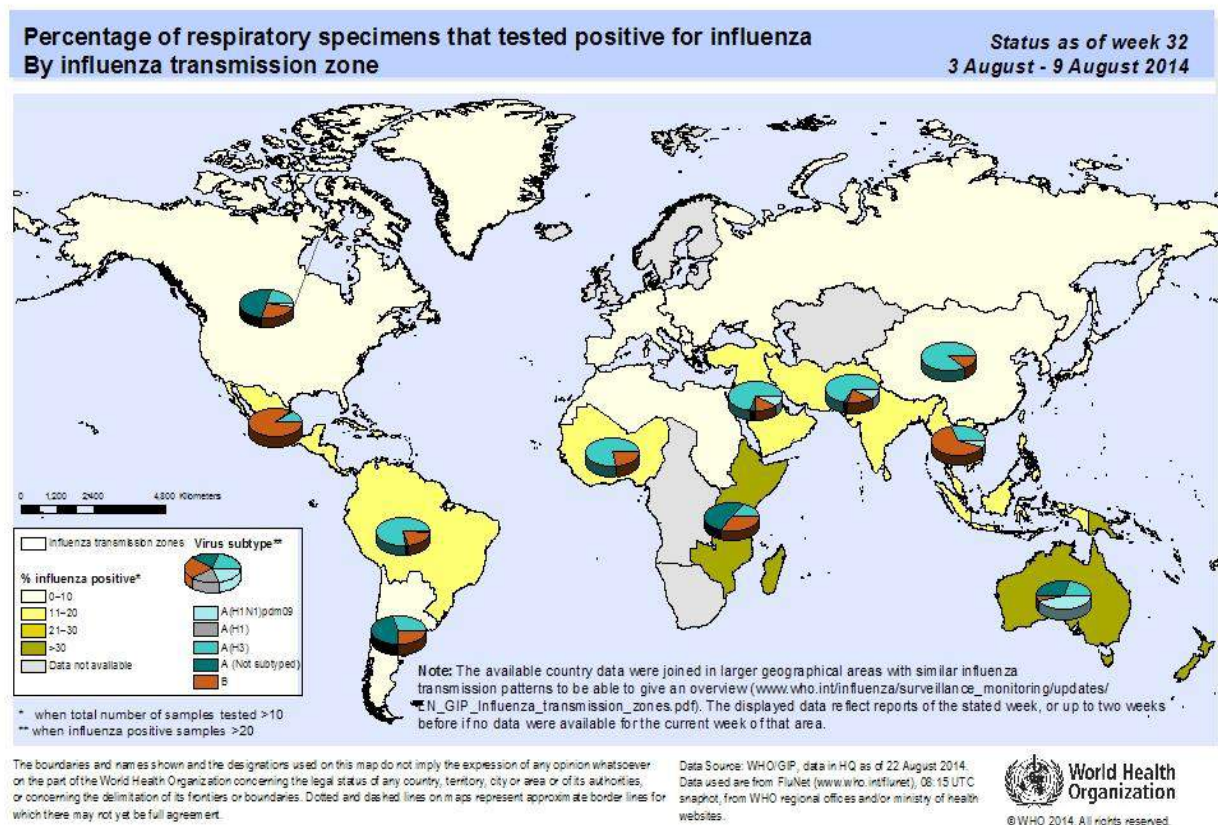


Fig. 7. Mapa epidemiológico dividido según las zonas de transmisión de la OMS mostrando la actualización de la actividad global del virus de la gripe del 03 al 09 de agosto 2014, disponible en http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/latest_update_GIP_surveillance/en/

La mortalidad provocada por el virus de la gripe varía considerablemente entre una temporada y otra debido a los cambios entre las cepas circulantes. Desde 1977 el subtipo A/H3N2 ha sido el causante del mayor número de casos mortales, mientras que las cepas de gripe B provocan una severidad intermedia y, por último, el subtipo H1N1 es el que menor número de muertes ha ocasionado desde entonces. El grupo etario más susceptible es el de los ancianos, con una tasa de letalidad del 90 % (Widdowson & Monto, 2013). En ellos, la mortalidad está altamente relacionada con exacerbaciones de condiciones preexistentes. Otro grupo a tomar en consideración es el comprendido por las mujeres

embarazadas, considerándose un grupo de riesgo debido al aumento de la mortalidad asociada a infecciones respiratorias durante los picos de la enfermedad.

Al igual que con la mortalidad, monitorizar el número de hospitalizaciones confirmadas por laboratorio permite calcular la actividad del virus durante la temporada, identificar los grupos que están siendo más severamente afectados, y establecer comparaciones con temporadas anteriores. Además, la caracterización de la cepa viral mediante la RT-PCR es fundamental para identificar los cambios antigénicos que ha sufrido el virus y poder diseñar vacunas frente a la nueva amenaza. El mayor número de hospitalizaciones en las regiones templadas se produce entre los ancianos, seguido de los niños, con una tasa mayor entre aquellos mayores de 65 años y menores de 6 meses, respectivamente, en este segundo grupo es debido a un sistema inmunológico inmaduro y la contraindicación de la vacuna.

Sin embargo, una cuantificación certera de la actividad del virus no es posible en todas las regiones del mundo, siendo el factor económico el mayor impedimento para ello. Existen menos datos de países en desarrollo en regiones tropicales y subtropicales donde, además de las variaciones en los picos de infección durante todo el año, un alto porcentaje de la población vive en condiciones de pobreza (Widdowson & Monto, 2013). Por tanto la morbilidad y mortalidad en estos países aumenta, a causa de la desnutrición, al escaso acceso a atención médica, antimicrobianos y vacunas y a un mal control de enfermedades preexistentes. Cabe mencionar los países del centro y oeste de África donde existe una alta prevalencia de infecciones por el VIH y tuberculosis asociada, ambas condiciones relacionadas a una alta severidad de la infección por el virus de la gripe debido a la deficiencia inmunológica asociada a estas enfermedades.

El sistema de vigilancia y respuesta global de la gripe “Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS)” es una red de laboratorios coordinados por la OMS que consiste en 141 Centros Nacionales de la gripe (NICs) en 111 estados miembros, 6 centros colaboradores por el virus de la gripe de la OMS (CCs), 4 laboratorios de regulaciones esenciales y 12 laboratorios de referencia de la OMS (Fig. 14). Es el encargado de monitorizar la actividad epidemiológica del virus y valorar la potencialidad de una cepa de provocar una pandemia. Para más información, visitar la página http://www.influenzacentre.org/centre_GISRS.htm

4.2 Gripe pandémica

La gripe pandémica corresponde a un nuevo subtipo de gripe A de origen animal para el cual la población presenta muy poca o ninguna inmunidad, siendo el resultado de un “reassortment”, o a través de la adaptación directa de un virus animal a huéspedes humanos que es capaz de provocar transmisión humano-humano de manera sostenida (Monto & Webster, 2013; Nguyen-Van-Tam & Bresee, 2013; Widdowson & Monto, 2013). De los 18 subtipos de HA hasta el momento solo las H1, H2 y H3 han sido capaces de producir una pandemia.

Se piensa que más de una docena de pandemias han ocurrido desde el siglo XVI hasta el momento. Durante los últimos 100 años cuatro de estos sucesos han azotado el mundo (Tabla 2) y solo de estas últimas se tienen muestras de los virus que las han causado. De ellas la más mortífera ha sido la pandemia de 1918, también llamada gripe española, de la que se hablará en detalle más adelante.

La gripe pandémica difiere de la gripe interpandémica en varios aspectos. La gripe pandémica no suele aparecer en estaciones específicas del año, sino que tiene intervalos irregulares e impredecibles de presentación (Taubenberger et al., 2007; Widdowson & Monto, 2013). Sin embargo, aunque durante las pandemias la mortalidad en la población joven suele incrementarse, principalmente en los menores de 2 años, los ancianos siguen siendo el grupo etario en el que mayor número de muertes se producen al igual que durante la gripe estacional, salvo en la pandemia de 1918 que rompió con este patrón.

La OMS ha clasificado el período pandémico mediante fases para facilitar su identificación y las medidas a tomar durante cada una de ellas, según se resume en la siguiente tabla.

Tabla 1. Fases de la gripe pandémica desarrolladas por la OMS*

Fase	Descripción
1	No han sido descritos casos de infección en humanos por virus de la gripe circulando en animales.
2	Se ha identificado a un virus animal circulando en aves domesticadas o en aves salvajes como causa de infección en humanos, por ende es considerado como una potencial amenaza de pandemia.
3	Un virus animal o un virus recombinante animal-humano ha causado casos esporádicos en pequeños grupos humanos, pero no ha provocado transmisión humano-humano suficiente para sostener un brote comunitario.

4	La transmisión humano-humano por un virus animal o recombinante animal-humano capaz de provocar un brote comunitario ha sido verificada.
5	El mismo virus identificado ha causado brotes epidémicos sostenidos en dos o más países de una región de la OMS.
6	El mismo virus ha causado brotes epidémicos sostenidos en al menos otro país perteneciente a otra región de la OMS.
Período post pico	Los niveles de la gripe pandémica en la mayoría de países han disminuido a niveles inferiores a un pico.
Período post pandémico	Los niveles de actividad del virus de la gripe han retornado a los niveles de gripe estacional en la mayoría de los países con vigilancia epidemiológica adecuada.

*Cada una de estas fases se asocia a recomendaciones para disminuir la diseminación de la infección, como son aumentar la vigilancia epidemiológica, limitar los viajes a zonas afectadas y el desarrollo de vacunas frente a la nueva cepa viral. Disponible en

http://www.who.int/influenza/resources/documents/pandemic_phase_descriptions_and_actions.pdf

4.2.1 Pandemia de 1918 o pandemia española

La pandemia de 1918, causante de una mortalidad global estimada entre los 20 a 50 millones de personas (Reid & Taubenberger, 2003; Reid et al., 1999; Taubengerger & Morens, 2006) ha sido, sin duda, la más mortífera hasta ahora registrada (Wang & Palese, 2013). En contraste con lo sucedido en otros países, en España, que no se encontraba involucrada en la primera guerra mundial (1914-1918), fue ampliamente recogida por la prensa, y de ahí que fuera bautizada como la gripe española (Neumann & Kawaoka, 2013). Sin embargo, el origen de la pandemia no ha podido ser determinado, aunque existe consenso en que el primer pico, en la primavera de 1918, afectó a varios países simultáneamente (Monto & Webster, 2013). Epidemiológicamente la pandemia se puede dividir en tres picos: un primer pico en la primavera de 1918, como acabamos de mencionar, que fue altamente infeccioso pero que causó poca mortalidad, una segunda onda en el otoño del mismo año que se diseminó rápidamente y cuya mortalidad aumentó exponencialmente en relación al pico anterior, y un último un pico entre finales de 1918 e inicio de 1919 similar al anterior (Reid et al., 1999; Taubengerger & Morens, 2006; Wang & Palese, 2013).

A finales de los años 1990 un grupo de investigadores dirigidos por Jeffrey K. Taubenberger inició la caracterización del virus causante de esta pandemia, logrando amplificar extractos de ARN de víctimas mortales. Fueron necesarios 10 años de trabajo para secuenciar los 8 segmentos de ARNv utilizando RT-PCR, tras lo que se concluyó que el gran devastador de 1918 fue la cepa A/H1N1 de origen aviar bien adaptado a mamíferos y capaz de replicarse rápidamente en todo el árbol pulmonar sin provocar

infección sistémica (Reid & Taubenberger, 2003; Reid et al., 1999; Taubengerger & Morens, 2006).

Entre las causas que explican la particular severidad de este virus están la eficacia de factores modulares de la virulencia, como la proteína NS1 para contrarrestar la respuesta inmunológica del huésped y, de la proteína PB1-F2 asociada a la alta tasa de neumonía secundaria severa, predominantemente bacteriana (Neumann & Kawaoka, 2013). Además, hay que añadir la ausencia de agentes antimicrobianos en aquella época, los intervalos cortos entre los picos de infección y el poco conocimiento del agente causal de la infección.

Una característica hasta ahora única de esta pandemia es el gran número de muertes entre los adultos jóvenes, con una tasa de letalidad de 1-2 % en aquellos entre 20-39 años de edad (Monto & Webster, 2013; Taubengerger & Morens, 2006), aunque no se limitó a este grupo, afectando también a niños, sobre todo menos de 1 año de edad, y mujeres embarazadas, lo cual se asemeja más a otras pandemias. La infección fue extraordinariamente uniforme, mostrando gran similitud alrededor del mundo y hoy día sabemos que dos mutaciones en la HA de una misma cepa cocircularon durante la pandemia, las D190E y D225G, ya comentados, como hacemos referencia en la sesión de mutaciones, permitiendo al virus adaptarse a distintos huéspedes. Además, durante esta pandemia la circulación del virus fue simultánea en humanos y en cerdos, pensándose que los primeros infectados fueron humanos y estos transmitieron el virus a los cerdos.

4.2.2 Pandemia de 1957 o asiática

A principios de 1957, se produjo una epidemia de gripe fue inicialmente documentada en Hong Kong, aunque ahora es sabido que previamente había comenzado en la China continental, y de ahí logró diseminarse al resto del mundo. Rápidamente se aisló el agente causal y se identificó un virus recombinante que tenía los segmentos codificantes de las proteínas HA, NA y PB1 de la cepa hasta entonces circulante H1N1 descendiente del linaje de 1918, resultando en un nuevo subtipo H2N2.

Contrario a la pasada pandemia de 1918, en ésta los grupos más susceptibles fueron los niños, aquellos con comorbilidades, en especial de etiología cardiovascular, y las mujeres embarazadas. La mortalidad asociada a esta pandemia se relacionó con el desarrollo de

neumonía bacteriana secundaria a *S. aureus* resistente a penicilina (Monto & Webster, 2013). La vacuna estuvo disponible en mayo de 1958, por lo que en 1959 pasó a ser una cepa estacional hasta que fue reemplazada en 1968 por una nueva pandemia, y desapareció completamente de la circulación.

4.2.3 Pandemia de 1968 o pandemia de Hong Kong

En julio de 1968, solo 11 años después de la anterior pandemia, fue detectado un virus nuevo circulando en Hong Kong producto de un "reassortment" con 6 segmentos de la cepa circulante H2N2 y con los segmentos codificantes de las proteínas HA y PB1 de una fuente aviar adicional, resultando en una cepa H3N2, con características clínicas similares al antecesor, pero de severidad menor debido a la inmunidad adquirida frente a la N2 de la antigua pandemia (Monto & Webster, 2013; Wang & Palese, 2013).

La diseminación del virus en Europa tuvo un carácter leve pero constante durante 1968 y 1969, estando la vacuna disponible pasado el pico de infección.

4.2.4 Pandemia de 2009 también llamada gripe porcina

En febrero de 2009 en Veracruz, México, se detectó una cepa nueva H1N1 de origen porcino. Este fue un suceso no esperado, ya que una cepa H1N1 había estado circulando desde su reintroducción en 1977. Los datos iniciales en México indicaban una tasa de hospitalización del 6.4 % y una mortalidad del 41 %, lo que apuntaba al desarrollo de una pandemia severa (Monto & Webster, 2013). El nuevo virus logró diseminarse mundialmente en solo 5 semanas, gracias a la alta frecuencia de viajes intercontinentales no existentes durante las pandemias previas. El 25 de abril de 2009 la OMS declaró una emergencia de salud pública de importancia internacional y el 11 de junio del mismo año declaró la pandemia por la A(H1N1)pmd09.

El nuevo virus fue producto de una recombinación triple entre una cepa humana, una porcina de origen aviar relacionada con la cepa de 1918, y una cepa porcina euroasiática (Garten et al., 2009). Esto es, en 1998 se produjo una recombinación triple entre la cepa H1N1 circulante desde 1977, llamada gripe porcina clásica, la cepa circulante y contemporánea A/H3N2 y un virus de gripe aviar de subtipo desconocido (ver Fig. 8), resultando en virus porcino recombinante rH3N2 circulante entre los cerdos en Norte América. Sin embargo, ni el lugar ni el momento exacto en el que ocurrió la

recombinación triple que dio lugar a la cepa pandémica de 2009 ha podido ser determinado, más bien los análisis filogenéticos de los 8 segmentos del virus sugieren que el virus pudo haber estado circulando entre los cerdos antes del estallido de la pandemia (Garten et al., 2009).

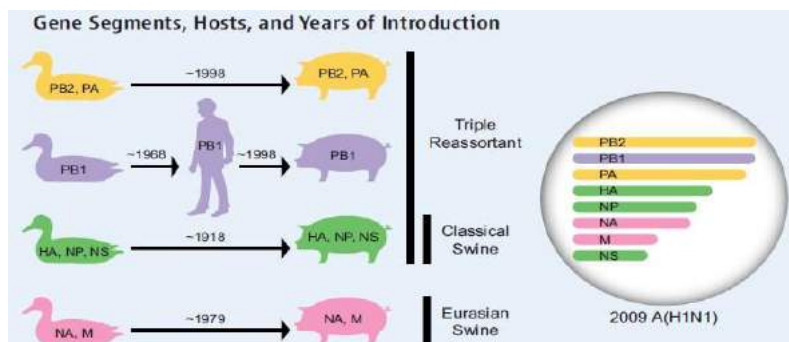


Fig. 8. Origen de los segmentos que conforman la cepa pandémica H1N1 y los años en los que se produjeron las distintas recombinaciones que la forman. Tomada de Garten et al., 2009.

A pesar de la alarma generada por la aparición de esta pandemia y de su origen recombinante tan particular, involucrando segmentos derivados de la cepa A/H1N1 de 1918, el número de muertes asociadas a ella fue de aproximadamente 151,700-575,400 personas, muy por debajo de los 20-50 millones de muertes adjudicadas a la pandemia de 1918.

Sin embargo, aunque la infección por la cepa A(H1N1)pmd09 fue, en el mayor porcentaje de los casos, autolimitada, las mujeres embarazadas y las personas obesas representaron grupos de riesgo de infección severa durante la pandemia e incluso después de que la OMS declarará el final de la misma en agosto de 2010, cuando la cepa pasó a circular como gripe estacional (Karlsson et al., 2012).

Tabla 2. Resumen de las cuatro últimas pandemias, clasificadas por cepas, zonas y mortalidad causada*.

Pandemia	Cepa	Zona de Inicio	Mortalidad
1918	H1N1	No establecida	20-50 millones
1957	H2N2	Asia	1-2 millones
1968	H3N2	Hong Kong	1 millón
2008	H1N1	Norteamérica	151,700-575,400

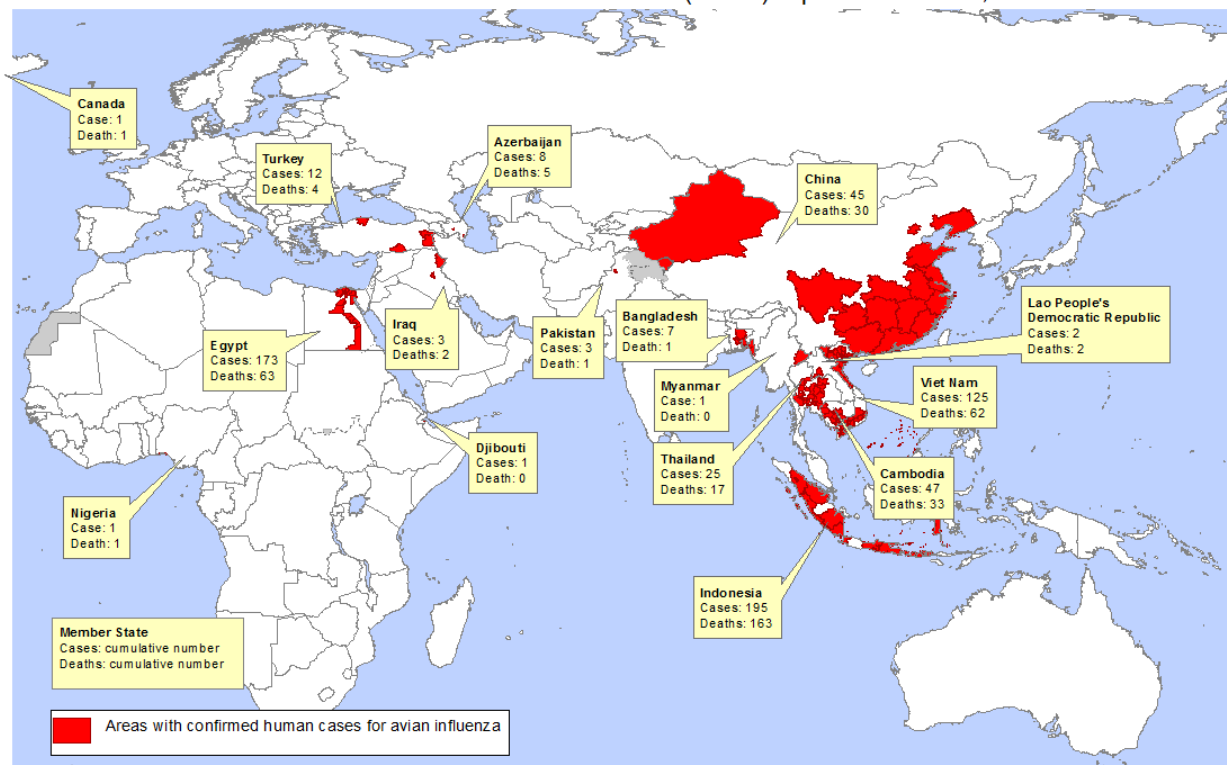
*Datos disponibles en <http://www.flu.gov/pandemic/history/>
[http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(12\)70121-4/abstract](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(12)70121-4/abstract)

4.2.5 La amenaza de las cepas H5N1 y H7N9

En 1997 se aisló por primera vez la cepa HPAI A (H5N1) como agente causal de infecciones respiratorias en 18 personas en Hong Kong, China, de los cuales 6 casos fueron letales, sin volverse a aislar en humanos hasta los años 2003 y 2004 cuando nuevamente cruzó la barrera de las especies, causando brotes epidémicos en Asia y el norte de África. Desde entonces este virus ha permanecido asociado a aves de corral en varios países predominantemente asiáticos con una tasa de letalidad del 100 % en algunas de estas especies, provocando cientos de infecciones humanas y una tasa de letalidad del 80 % en ellos (Fig. 9) (Monto & Webster, 2013; OMS, 2014, disponible en http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_avian_influenza_update20140317.pdf)

Aunque la mayoría de las infecciones humanas se produjeron tras el contacto directo con las aves de corral también hubo evidencia de transmisión humano-humano no sostenida, pasando a una fase 3 dentro de la clasificación pandémica desarrollada por la OMS (tabla 1), representando una potencial amenaza pandémica dada la escasa inmunidad que tiene la población frente a esta cepa aviar.

Areas with confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003-2013*



*All dates refer to onset of illness
Data as of 24 January 2014
Source: WHO/GIP

The designations employed and the presentation of the material in this publication do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Solid and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not be full agreement.
© 2014. All rights reserved.



Fig. 9. Mapa epidemiológico de infecciones humanas por el HPAI H5N1 desde 2003 hasta 2013. Tomada de la línea temporal y mapa global de infecciones por H5N1 creadas por la OMS hasta enero 2014. Disponible en la galería de mapas del observatorio global de salud en <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx> http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/2003_2013_AvianInfluenza_GlobalMap_24Jan14.png

A su vez, el 31 de marzo de 2013 fueron descritos por primera vez tres casos de infección humana por la cepa LPAI A (H7N9), que aun perteneciendo a una clase de baja patogenicidad tiene una alta tasa de letalidad en humanos asociada al desarrollo de neumonía, síndrome de distrés respiratorio agudo y shock (Gao et al., 2013; Lucas, 2013). En menos de dos meses se comunicaron 132 casos confirmados por laboratorio, de los cuales 32 resultaron letales y, hasta el momento el número asciende a un total de 431 casos, todos dentro de China y todos, salvo el último con fecha del 16 de junio del año en curso, asociados a exposición directa o indirecta a aves de corral (Fig. 10). Se ha identificado que el sexo masculino, los adultos mayores y aquellos con comorbilidades representan grupos de riesgo para el desarrollo de infección por este virus, complicaciones secundarias a la misma y muerte (Gao et al., 2013). En general, la población no posee inmunidad frente a esta nueva cepa, que resulta de una recombinación entre la cepa H9N2 circulante en aves desde 1994, una cepa H7N3 recientemente detectada en aves de corral en mercados de aves vivas y virus con N9, también aislados recientemente en aves de corral (Lucas, 2013).

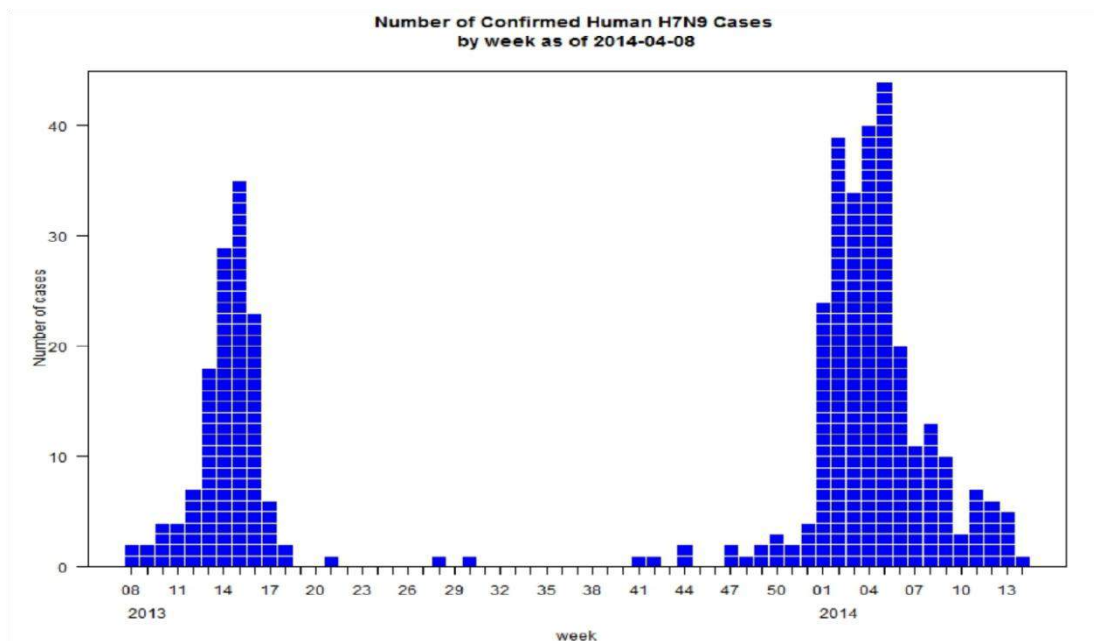


Fig. 10 Número de casos confirmados de infecciones humanas por el LPAI A(H7N9) desde 01 de junio de 2013 hasta el 08 de abril de 2014. Tomada del reporte de casos elaborado la OMS, disponible en http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/influenza_h7n9/18_reportwebh7n9number_20140714.pdf?ua=1

Gracias a medidas de contención, como el cierre de los mercados de aves por varios meses, la infección no se ha propagado a otros países, además de que todos los casos confirmados deben ser notificados a la OMS, manteniendo la vigilancia epidemiológica del virus.

5. Aspectos clínicos

5.1 Patogénesis

La patogenia de la infección por el virus de la gripe resulta de la relación entre factores virales, como la cepa, cantidad del inóculo, virulencia y lugar de la primoinfección, y factores del huésped que incluyen la predisposición genética y la presencia de comorbilidades. Además también influyen factores externos como el acceso a servicios de salud, antivirales y vacunación previa (Hayden & de Jong, 2013; Klenk et al., 2013). Algunos de los mecanismos patogénicos más importantes del virus de la gripe son: el tropismo hacia sus huéspedes determinado por la HA, la activación proteolítica de la HA0 por diferentes proteasas, el escape de la respuesta inmune innata mediada por la proteína NS1, la potenciación de infecciones bacterianas determinada por la PB1-F2 y, el papel de la NA en la liberación del virus, que asegure su propagación a otras células.

La transmisión persona-persona se produce por vía respiratoria, a través de secreciones cargadas del virus, aunque el contacto directo con los enfermos o a través de fómites aparenta ser otra vía de transmisión. En el caso del contagio humano por un virus animal la transmisión puede darse por contacto con las secreciones respiratorias del mismo, contaminación conjuntival tras manipular el animal, y por la ingesta de carne mal cocinada. El sitio inicial de la infección juega un papel determinante en la evolución de la misma, siendo que los virus de la gripe humana por su colonización del tracto respiratorio superior se asocian al desarrollo de traqueobronquitis, mientras que los virus de la gripe aviar que colonizan el tracto respiratorio inferior se relacionan con el desarrollo de neumonía viral.

El período de incubación varía entre 1-4 días, pero en virus aviares puede extenderse hasta los 9 días, mientras que la replicación viral suele durar entre 5-7 días en adultos no complicados, pero en niños e infantes puede prolongarse hasta por dos semanas, y meses en pacientes inmunocomprometidos (Hayden & de Jong, 2013).

Los hallazgos histopatológicos en infecciones no complicadas incluyen la descamación del epitelio ciliado, hiperemia y edema, mientras que la extensión de la infección a los alveolos y la presencia de exudado y hemorragia alveolar suelen estar presente en los casos letales. En la patogénesis de las infecciones severas están involucrados los linfocitos T helper y mediadores de la respuesta inmune como el INF- γ , IL-6, IL15, CXCL9 y CXCL10, que suelen permanecer elevados de forma sostenida. A su vez, la rápida elevación de reactantes de fase aguda y los factores genéticos del huésped también se vinculan al desarrollo de infecciones complicadas. Por ejemplo, mutaciones en ña carnitinapalmitoiltransferasa II (CPT II) (asociadas con anomalías en el metabolismo mitocondrial y producción de ATP) se han relacionado con la aparición de encefalopatía severa durante la infección viral.

La complicación más frecuentemente asociada a la infección por el virus de la gripe es la neumonía bacteriana secundaria, ya que el daño epitelial causado por el virus permite el paso de bacterias, debido a que la actividad de la NA expone receptores celulares a los que pueden unirse las bacterias, mientras que la NP inhibe la quimiotaxis de polimorfos nucleares y la producción de superóxido, contribuyendo al desarrollo de esta complicación. Entre las bacterias aisladas con mayor frecuencia se encuentran *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), entre otras. Otras complicaciones menos frecuentes asociadas a la infección por el virus de la gripe son la miocarditis, síndrome de Reye, convulsiones febriles, encefalitis, síndrome de Guillian-Barré post infección gripal, entre otros (Hayden & deJong, 2013; Klenk et al., 2013).

Los síntomas en la infección no complicada se engloban en el denominado resfriado común, un síndrome constituido por tos, irritación nasofaríngea, congestión nasal y en ocasiones algunos síntomas constitucionales como fiebre de 38-40° C, acompañada o no de escalofríos, malestar general y fatiga. Los responsables de estos síntomas son algunas citoquinas moduladoras de la respuesta inflamatoria como el INF- α , IL-6 y el TNF- α (Hayden & De Jong, 2013), y los síntomas suelen durar aproximadamente 7 días. En los niños el síntoma principal es la fiebre, que aparece hasta en un 90 % de los casos, aunque un porcentaje alto también puede presentar síntomas gastrointestinales como vómitos y diarrea. También pueden aparecer exacerbaciones de crisis asmáticas asociadas al virus, mientras que en el caso de los adultos mayores, la morbi-mortalidad se asocia a la presencia de comorbilidades, sobre todo enfermedades cardiovasculares, enfermedad

pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y diabetes mellitus no controlada. En el caso de las enfermedades cardiovasculares, las descompensaciones son provocadas por la sobrecarga cardíaca producto de la fiebre, la hipoxia producto de la disminución de la difusión del dióxido de carbono y, el efecto procoagulante de algunos reactantes de fase aguda, como el factor activador de plaquetas (FAP).

Por otro lado, aunque las mujeres embarazadas presentan manifestaciones clínicas similares al resto de la población, representan un grupo de riesgo dada su alta mortalidad durante picos de gripe estacional así como durante las pandemias (Karlsson et al., 2012; Widdowson & Monto, 2013), siendo más afectadas aquellas que cursan el segundo y tercer trimestre de gestación y durante el puerperio mediato. A su vez, la infección por el virus de la gripe durante el embarazo ha sido vinculada al desarrollo de anomalías del sistema nervioso central (SNC) fetal cuando la infección ocurre durante el primer trimestre de gestación, también al incremento en el riesgo de desarrollo de leucemias durante la niñez y de esquizofrenia, aunque esto último no ha podido ser demostrado (Hayden & de Jong, 2013).

5.2 Diagnóstico

El diagnóstico de una infección por el virus de la gripe es sugerido por la presentación clínica, sin embargo no puede apoyarse solo en ella ya que otras infecciones respiratorias pueden presentarse con las mismas manifestaciones, como las del virus respiratorio sincitial por ejemplo, y un diagnóstico certero es fundamental para proporcionar un tratamiento adecuado a los pacientes y para monitorizar un brote epidémico. La confirmación diagnóstica de la infección puede obtenerse a través varios métodos de laboratorio.

Las muestras clínicas para diagnóstico, secreciones del tracto respiratorio del enfermo, para diagnóstico deben tomarse lo antes posible desde el inicio de los síntomas y el tipo de muestra dependerá del test que se realizará. Pueden tomarse por medio de la introducción de un hisopo nasofaríngeo, aspirados nasofaríngeos o endotraqueales y lavados nasales o bronqueoalveolares. El mejor método para el diagnóstico de la infección por el virus de la gripe es la RT-PCR, que permite la identificación del ARNv y su amplificación al cabo de unas horas, y se utiliza cada vez más en los hospitales de

segundo y tercer nivel de atención en países desarrollados (World Health Organization & WHO Global Influenza Surveillance Network, 2011; Zambon, 2013).

La detección por inmunofluorescencia en muestras clínicas tiende a utilizarse una vez la replicación viral se ha reducido, ya que el diagnóstico se apoya en la detección de los anticuerpos frente al virus. Los análisis inmunocromatográficos y por ELISA (pruebas rápidas, 10-30 minutos) son utilizados cuando se necesita tomar decisiones rápidas con respecto al tratamiento de los pacientes en el contexto de las emergencias hospitalarias.

El aislamiento viral en cultivo celular o en huevos fertilizados es otro método diagnóstico efectivo, pero que implica un tiempo de crecimiento de 7 días, por lo cual no se emplea en el contexto clínico, pero sí para vigilancia virológica.

5.3 Prevención

La vacunación anual frente al virus de la gripe representa la mejor forma de prevención de la infección y sus complicaciones y la letalidad asociada a éstas, disminuyendo el impacto económico de las epidemias y pandemias causadas por este virus. Gracias a la vigilancia epidemiológica implementada a través del GISRS se pueden generar vacunas nuevas cada año frente a las cepas antigénicamente mutadas del virus de la gripe, y para las que la población no tiene inmunidad específica.

Por otro lado, la FDA recomienda el uso de antivirales de manera profiláctica en grupos de riesgo que han estado en contacto con un infectado por el virus de la gripe (Fiore et al., 2011)

5.4 Tratamiento

El tratamiento de una infección por el virus de la gripe consiste en un conjunto de medidas e intervenciones diseñadas para detener la replicación viral, mejorar la sintomatología del paciente, hacer frente a las complicaciones y prevenir la diseminación viral. En la actualidad existen dos grupos de antivirales aprobados para el tratamiento farmacológico del virus de la gripe: los inhibidores de la proteína M2 y los inhibidores de la NA.

5.4.1. Inhibidores de la proteína M2

Las aminoadamantinas o inhibidores de la proteína M2, amantadina y rimantadina, interactúan con los residuos 27 y 34 del N-terminal de esta proteína, bloqueando el canal iónico formado por ella, solo en los virus de la gripe A. Normalmente este canal iónico permite el paso de protones desde el endosoma al interior del virus, por lo que su bloqueo inhibe la disociación entre las RNPs y la proteína M1 previa fusión de las membranas que resultaría en su posterior liberación al citoplasma. Aunque se encuentran en el mercado desde 1966 para el tratamiento y prevención de infecciones por el virus de la gripe, el gran número de virus con resistencia a ellos ha limitado su uso, siendo muy poco actualmente. Se ha visto que las mutaciones L26F, V27A/G o L27S/T, S31N y G34E son las responsables de la resistencia a estos fármacos tanto en cepas humanas, porcinas y aviares (Ison & Hay, 2013).

Ambos fármacos se administran por vía oral y pertenecen a la categoría C del embarazo, dentro de la clasificación desarrollada por la ‘‘Food and Drug Administration (FDA)’’ (disponible en <http://depts.washington.edu/druginfo/Formulary/Pregnancy.pdf>). Los efectos adversos asociados a estos fármacos se relacionan a su acción antimuscarínica, entre ellos náuseas, vómitos, anorexia e hipotensión ortostática. Ambos pueden provocar desorientación, confusión, cefaleas y alucinaciones en un número reducido de pacientes, lo cual puede aumentar con el uso simultáneo de antidepresivos, antihistamínicos y anticolinérgicos.

5.4.2 Inhibidores de la NA

Los inhibidores de la NA más utilizados son el oseltamivir y el zanamivir, aunque existen dos fármacos más, el peramivir, comercializado en Japón y Corea del Sur, y el laninamivir hasta el momento solo aprobado para su uso en Japón.

El zanamivir (nombre comercial Relenza®) es un derivado del 2,3 dihidroxi-2-deoxyN-acetilneuramínico (DANA) y fue el primer inhibidor de la NA creado en los años 1980’s, análogo de ácidos siálicos (Fig. 11). Se une a los residuos E119, D151 y E227 en el sitio catalítico de la NA, inhibiendo su actividad enzimática. Se administra a través de un inhalador y solo un 15 % del fármaco llega a las vías respiratorias inferiores, mientras que el porcentaje restante se distribuye en la orofaringe del paciente (Ison & Hay, 2013), por lo que su eficacia en pacientes con neumonía severa es incierta. Su uso ha sido asociado a

broncoespasmo, en ocasiones severo, en pacientes con comorbilidades pulmonares. Las cepas resistentes al Oseltamivir mantienen la susceptibilidad al zanamivir, por lo que su uso está indicado en estos casos (Hayden & de Jong, 2013).

Por otro lado, el Oseltamivir, otro análogo de ácidos siálicos (Fig. 12), de nombre comercial Tamiflu®, se une a la NA a través de una bolsa hidrofóbica que expone la proteína en el residuo E276 tras la interacción con el fármaco (Ison & Hay, 2013). Es más ampliamente usado que el Zanamivir debido a su mayor biodisponibilidad, distribución sistémica y la facilidad de su administración por vía oral en todas las edades. Es un profármaco convertido en su metabolito activo por esterasas en hígado, tracto gastrointestinal y la sangre, cuya eliminación es renal. El oseltamivir pertenece a la categoría C del embarazo, aunque en infecciones graves en embarazadas durante el segundo y tercer trimestre ha sido necesario incrementar las dosis por encima de lo habitual logrando buenos resultados. Algunas cepas H3N2 han mostrado resistencia al oseltamivir y se han identificado las mutaciones R292K y E119V asociadas a ésta, mientras que en las cepas H5N1 y H1N1 la resistencia al fármaco ha sido determinada por el cambio H275Y, también asociado a resistencia al peramivir.



Fig. 11 Estructura química del Zanamivir ,
tomada de Drugbank, disponible en
<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00558>

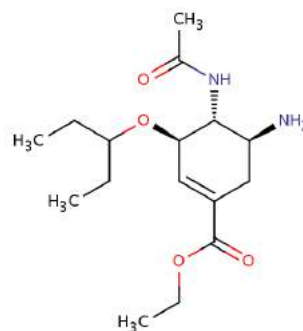


Fig. 12 Estructura química del Oseltamivir,
tomada de Drugbank, disponible en
<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00198>

El Tamiflu®, producido por el grupo farmacéutico Roche, actualmente forma parte de la lista de medicinas esenciales para adultos y niños de la OMS (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/93142/1/EML_18_eng.pdf?ua=1) y (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/93143/1/EMLc_4_eng.pdf?ua=1). Fue recomendado por ésta organización para el tratamiento de la gripe durante la pandemia de 2009. Se recomendó también a los gobiernos el acopido de existencias para dar respuesta en caso de una

pandemia. Estas recomendaciones se hicieron sobre la base de solo dos estudios clínicos suministrados por Roche, en los que publicaba que el Tamiflu® disminuía la duración de los síntomas de la infección y el contagio de persona-persona. Sin embargo, en abril de éste año 2014 el grupo Cochrane, a través del British Medical Journal ‘‘BMJ’’, publicó un meta-análisis de 83 estudios clínicos, que no habían sido publicados previamente por Roche, sobre el uso del Oseltamivir en adultos y niños (Jefferson et al., 2014) (<http://www.bmj.com/tamiflu>). El metanálisis concluye que el Tamiflu® no tiene efectos sobre los niños con asma bronquial, grupo especialmente en riesgo de desarrollar complicaciones tras una infección por el virus de la gripe, tampoco existe reducción en la tasa de hospitalización entre los adultos o el desarrollo de neumonía secundaria, y el tiempo de reducción de síntomas en niños sanos es de aproximadamente 29 horas. Además de efectos adversos asociados al tratamiento, como náuseas, vómitos, alteraciones renales y neuropsiquiátricas.

Por último, el peramivir, de nombre comercial Peramiflu®, se administra por vía endovenosa. Posee los sitios de unión a la NA del zanamivir y del oseltamivir, ofreciendo la ventaja terapéutica frente a cepas resistentes; mientras que el laninamivir solo está aprobado en Japón y es un profármaco de administración inhalada al igual que el zanamivir y ofrece la ventaja de ser efectivo frente a las cepas H5N1 y H1N1 con la mutación H275Y.

5.4.3. Medidas de soporte

En infecciones por el virus de la gripe no complicadas el tratamiento sintomático se basa en el uso de antipiréticos y analgésicos tipo paracetamol u otros antiinflamatorios no esteroideos (AINES). También pueden emplearse antitusivos en el caso de que la tos sea muy frecuente o imposibilite el sueño del paciente, ya que ésta por lo general no debe inhibirse. En los menores de 19 años debe evitarse el uso de aspirina debido a la asociación que existe entre su administración a niños y adolescentes como tratamiento sintomático durante una infección viral y el posterior desarrollo del síndrome de Reye (Hayden & deJong, 2013; Pugliese et al., 2008). A su vez, desde el año 2000 en Japón se ha prohibido el uso de diclofenaco y ácido mefenámico para el tratamiento en niños de la encefalopatía por el virus de la gripe debido a su asociación a una mayor letalidad de la misma, la cual ha disminuido desde que se acató esta medida. En el caso de las embarazadas, el paracetamol es el AINES de elección a utilizar.

Por otro lado, en las infecciones complicadas en las que se desarrolla neumonía y/o síndrome de distrés respiratorio agudo (ARDS) el uso de glucocorticoides sistémicos se ha asociado al incremento en la aparición de otras complicaciones, como el desarrollo de neumonía fúngica. En los pacientes con ARDS la ventilación mecánica ha demostrado mejores resultados, salvando mayor número de vidas, que el soporte ventilatorio no invasivo, pero el personal médico debe ser cauto para evitar complicaciones como el barotrauma.

5.5 Inmunidad

5.5.1. Inmunidad innata

El sistema inmune innato reconoce la infección celular por el virus de la gripe gracias a los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), entre los que destacan: RIG-I, los "toll-like receptors (TLR)" y los receptores tipo dominios de oligomerización por unión a nucleótidos "nucleotide-binding oligomerization domain o NOD-like receptors (NLR)", cuya función es reconocer patrones moleculares asociados a patógenos "pathogen-associate molecular patterns (PAMPs)", resumidos en la figura 13, (Iwasaki & Peiris, 2013).

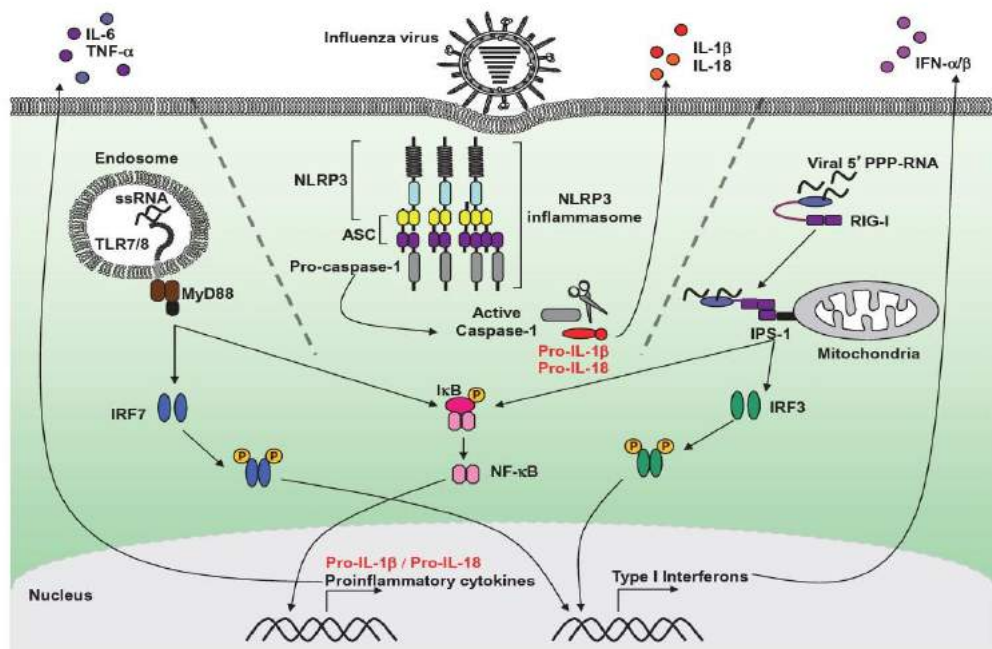


Fig. 13. Sensores citoplasmáticos del sistema inmune innato que reconocen la infección por el virus de la gripe. Tomado de Iwasaki & Peiris, 2013.

Brevemente, como se detalló previamente en la sección de la proteína NS1, RIG-I reconoce la estructura conservada de dsRNA adyacente al extremo 5' trifosfato del virus. Su activación induce una cascada de señalización resultante en la transcripción de la familia de interferón tipo I y proteínas antivirales inducidas por éste en las células infectadas y células aledañas para hacer frente al virus (Krug & García-Sastre, 2013). Mientras que, por su parte, los TLR-7 y TLR-8 reconocen el ARNv de cadena simple en el endosoma de células dendríticas y linfocitos B (Baumgarth et al., 2013) y, a través del factor regulatorio del interferón-7, también promueven la producción de INF e inducen la producción de citoquinas proinflamatorias por medio de una proteína adaptadora, la proteína de respuesta primaria y diferenciación mieloide 88 (MyD88) (Iwasaki & Peiris, 2013). Las citoquinas inducen la activación de células dendríticas, macrófagos y células "natural killers (NK)".

Algunas de las proteínas antivirales inducidas por INF son la MxA, la OAS/RNasa L y la PKR, mencionadas previamente y que detallaremos en esta sección:

La MxA es una GTPasa citoplasmática que reconoce las RNPs del virus que han sido liberadas al citoplasma y cuya función es la inhibir la importación de éstas al núcleo. La OAS es activada por el dsRNA viral y convierte ATP en 2'5' oligoadenilato. Éste actúa como segundo mensajero activando la RNasa L, cuya función es la de degradar al ARN de cadena simple tanto viral como celular, inhibiendo la síntesis proteica y la replicación viral. Por último, la PKR también reconoce el dsRNA viral y una vez activada fosforila la subunidad α del factor eucariótico iniciador de la traducción 2a (eIF2a), provocando la inhibición de la síntesis de proteínas tanto celulares como virales, además de estabilizar el ARNm de INF, asegurando una producción adecuada de esta citoquina (Iwasaki & Peiris, 2013; Krug & García-Sastre, 2013).

Por otro lado, la proteína receptora tipo dominio de oligomerización por unión a nucleótidos-3 (NLRP3) de células dendríticas y macrófagos al detectar el virus oligomeriza y forma un complejo multiproteico llamado inflamosoma, el cual activa la caspasa 1, responsable de la maduración de la IL-1 β , y su subsecuente liberación (Fig. 13). La IL-1 β actúa sobre las células dendríticas promoviendo el desarrollo de la respuesta inmune adaptada, suscitando la migración de neutrófilos, monocitos, células dendríticas y células NK al tejido pulmonar infectado. Las células NK reconocen las células infectadas

por el virus de la gripe a través del receptor citotóxico natural-1 (NCR-1), mientras que los monocitos que han sido reclutados sufren una diferenciación a células dendríticas y macrófagos. Estas células dendríticas derivadas de monocitos actúan como células presentadoras de antígenos estimulando a linfocitos T citotóxicos para que eliminen las células infectadas, además de migrar a los ganglios linfáticos de drenaje donde activan a linfocitos T y linfocitos B.

5.5.2 Respuesta inmune adaptada: inmunidad mediada por células e inmunidad mediada por anticuerpos

La respuesta inmune mediada por anticuerpos es inducida rápidamente y conlleva la formación de anticuerpos neutralizadores que disminuyen la replicación y diseminación viral tanto a nivel local en la mucosa del tracto respiratorio superior y del tejido pulmonar en el tejido linfoide asociado a los bronquios, como a nivel sistémico en los ganglios linfáticos que drenan la infección, desde donde migran hacia el lugar antigénico. Estos anticuerpos van dirigidos al sitio de unión al receptor de la HA, donde se encuentran sus epítomos.

La interacción de los linfocitos B con los linfocitos T CD4+ activados y con células dendríticas promueve la diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas secretoras de anticuerpos y células B de memoria. Éstos serán altamente específicos frente a esa cepa viral y protegerán al individuo en el caso de una reinfección por una cepa homóloga, sin embargo, debido a la alta tasa de mutaciones que sufre el virus de la gripe, esta inmunidad mediada por anticuerpos deja de ser específica en caso de infección por una cepa mutada, aunque sí se mantiene protección parcial gracias a la reactividad e inmunidad cruzada de los anticuerpos neutralizados frente a regiones conservadas de la HA (Baumgarth et al., 2013; We et al., 2013). Durante la última pandemia en el año 2009 por la cepa A(H1N1)pmd09 la morbi-mortalidad en los ancianos fue inesperadamente baja, y estudios serológicos realizados en personas nacidas antes de la década de 1970 mostraron que éstos individuos estaban parcialmente protegidos por reactividad cruzada de los anticuerpos frente a una cepa H1N1 previamente circulante (Baumgarth et al., 2013).

La inducción de células plasmáticas secretoras de anticuerpos en los centros germinales de los ganglios linfáticos se produce aproximadamente a los 3-5 días. En la mucosa del tracto

respiratorio superior predomina la secreción de IgA, mientras que en el tracto respiratorio inferior predominan las IgM e IgG.

5.6 Vacunas

La vacunación frente al virus de la gripe es un enfoque preventivo primario basado en la inducción de inmunidad o protección homosubtípica frente a la HA del virus. Los estudios clínicos para producir la primera vacuna frente al virus de la gripe se iniciaron en 1942 (Salk et al., 1945) y en 1945 se aprobó la primera vacuna basada en virus inactivados para su uso en civiles, previa eficacia demostrada en militares (Keitel et al., 2013).

Cada año es necesaria la elaboración de nuevas vacunas frente al virus de la gripe debido a los cambios antigénicos que sufre el virus. Es por esto que el GISRS, a través de los centros colaboradores, mantiene la vigilancia antigénica del virus de la gripe aislando muestras de pacientes alrededor del mundo para tratar de predecir cuales serán las cepas dominantes en la siguiente temporada (mapa antigénico disponible en <http://antigenic-cartography.org/>). Por lo general se toma como referencia las cepas que circulan durante el invierno del hemisferio sur para desarrollar las vacunas que se utilizan en el hemisferio norte (Widdowson & Monto, 2013).

En el momento actual las vacunas pueden utilizar virus vivos atenuados “Lived Attenuated Influenza Vaccine (LAIV)” o partículas virales inactivadas a través de detergentes, los denominados “split-virions” de las “Inactivated Influenza Vaccine (IIV)”, además pueden ser trivalentes o cuadrivalentes. El método más ampliamente utilizado para la fabricación de estas vacunas es el crecimiento viral en huevos embrionados. Sin embargo éste es un proceso lento, lo que puede comprometer la disponibilidad de las vacunas durante un brote o epidemia, como ocurrió durante la pandemia de 2009, en que las vacunas estuvieron disponibles una vez pasado el pico de infección (Widdowson & Monto, 2013). Además depende de la vulnerabilidad de la población de los pollos y la contraindicación del uso de estas vacunas en personas alérgicas a la ovoalbúmina (Keitel et al., 2013). Es por esto que otras alternativas se están implementando, como el crecimiento viral en células de insectos (Cox & Hollister, 2009; Treanor et al., 2011).

Las IIV pueden administrarse vía subcutánea o intramuscular y se pueden presentar en un vial de uso único o un vial de dosis múltiples, mientras que las LAIV se administran por inhalación intranasal. La dosis estándar es de 15 µg de proteína vírica (HA) por cepa, sin embargo estudios recientes muestran beneficios en la utilización de dosis elevadas de 45 µg por HA en los ancianos, en quienes un sistema inmune senescente y la presencia de enfermedades crónicas pueden disminuir la respuesta a las vacunas (Falsey et al., 2009).

Las cepas recomendadas por el CDC para la elaboración de las vacunas para la presente temporada 2014-2015 son las mismas utilizadas durante la pasada temporada 2013-2014, esto es: A/California/7/2009 (H1N1), A/Texas/50/2012 (H3N2) y B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata), mientras que las vacunas cuadrivalentes, aprobadas desde la temporada pasada, también incluyen la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (Harris et al., 2014).

Las recomendaciones de la OMS para la inmunización de grupos especiales se encuentran disponibles en

http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2012/april/1_Background_Paper_Mar26_v13_cleaned.pdf

Los efectos adversos asociados a las vacunas frente al virus de la gripe incluyen efectos locales, como eritema e induración del lugar de la inyección que suelen mejorar en 1-2 días. Síntomas de afección sistémica también pueden presentarse como fiebre, malestar general, mialgias y cefalea en aproximadamente 1% de los adultos vacunados (Keitel et al., 2013). Sin embargo, se han reportado efectos adversos severos relacionados al uso de estas vacunas, como el síndrome de Guillain-Barré, asociado por primera vez a la IIV durante la campaña de vacunación de 1976 en la que se estimó un riesgo de 1 en 100,000 vacunados, y estudios más recientes muestran un riesgo estadísticamente significativo durante las primeras 7 semanas postvacunación (Keitel et al., 2013). Además, la vacuna ‘‘Pandemrix®’’ desarrollada por GlaxoSmithKline utilizando el adyuvante A(s03), usada durante la pandemia de 2009 ha sido vinculada con el desarrollo de narcolepsia en niños en países como Finlandia, Suecia, Francia y Canadá. En agosto de 2010, 14 niños habían sido diagnosticados con narcolepsia en Finlandia y el ministerio de salud finlandés ordenó detener la vacunación con Pandemrix® debido a la asociación del desarrollo de la enfermedad con la temporada de vacunación (Nohynek et al., 2012; Partinen et al., 2012).

Por otro lado, se han identificado anticuerpos neutralizadores frente a epítomos conservados en la HA, los cuales están siendo investigados con la meta de crear una vacuna universal frente al virus de la gripe. En 1993 fue descrito el C179, el primer anticuerpo neutralizador con actividad cruzada frente a cepas H1, H2, H5, H6 y H9. Este anticuerpo reconoce los epítomos en la región conservada de la subunidad HA2. Más recientemente, en 2008, fueron identificados los bnAbs (CR6261, F10 y A06), anticuerpos neutralizadores frente a cepas H1, H2, H5 y H9 del virus de la gripe, reconociendo epítomos en el tallo de la HA muy cercanos a la membrana viral (Wei et al., 2013). Además, se ha identificado un segundo epítomo en el tallo de la HA reconocido por otro anticuerpo neutralizador, el mAb (CR8020), y una región en la HA1 que incluye el sitio de unión al receptor. Esto es, la actividad del CR8020 es complementaria a la actividad de CR6261/F10, por lo que una vacuna con estos elementos podría brindar protección frente a la mayoría de las cepas del virus de la gripe (Wei et al., 2013).

6. Perspectivas

En el momento actual, en el que la población mundial ha aumentado, y las concentraciones demográficas se hacen dentro y en los alrededores de las grandes urbes, donde prima una población joven, con un alto consumo de aves de corral y de cerdos, además, del incremento en la conectividad de las ciudades y regiones gracias a la mejora medios de transporte, así como de los viajes interoceánicos a diario, (dentro de un periodo de incubación o de infectividad), es fundamental mantener una vigilancia estrecha de la actividad del virus de la gripe (Jernigan & Cox, 2013).

A su vez, la economía de los países asiáticos está fuertemente vinculada a la crianza de aves de corral. En muchos de estos países en vías de desarrollo la refrigeración de la carne para la venta no está ampliamente disponible, por lo que se recurre al transporte y la venta de los animales vivos en los mercados. En las granjas de aves de corral estos animales pueden tener contacto con aves silvestres que se detienen allí durante su migración, lo cual facilita la transmisión del virus de la gripe aviar entre estas especies, ya que, como hemos mencionado, las aves acuáticas representan el reservorio natural para el virus de la gripe (Fouchier & Guan, 2013; Jernigan & Cox, 2013).

La colaboración internacional es necesaria para la adecuada vigilancia, control y respuesta rápida a los brotes epidémicos del virus de la gripe. En el año 1951 se crearon las

regulaciones internacionales para la salud (IHR) y en 1952 el GISRS (Fig. 14). Más recientemente, en 2005 se desarrolló el concepto de “emergencia de salud pública de importancia internacional”, definido como un evento extraordinario, que constituye un riesgo para la salud pública de otros estados por medio de la diseminación internacional de la enfermedad y que potencialmente requiere una respuesta internacional coordinada (Jernigan & Cox, 2013). Cuatro años más tarde, el 25 de abril de 2009, el brote epidémico del virus de la gripe causado por la cepa nueva A(H1N1)pmd09 recibía esta clasificación por la OMS antes de ser declarada pandemia en junio 11 del mismo año.

Mantener la coordinación internacional es fundamental para el control y respuesta a un virus que no respeta fronteras territoriales ni barreras interespecie, que es capaz de recombinar sus cepas y emerger o reemerger abruptamente sin que tengamos inmunidad específica contra él provocando la muerte de millones de personas.

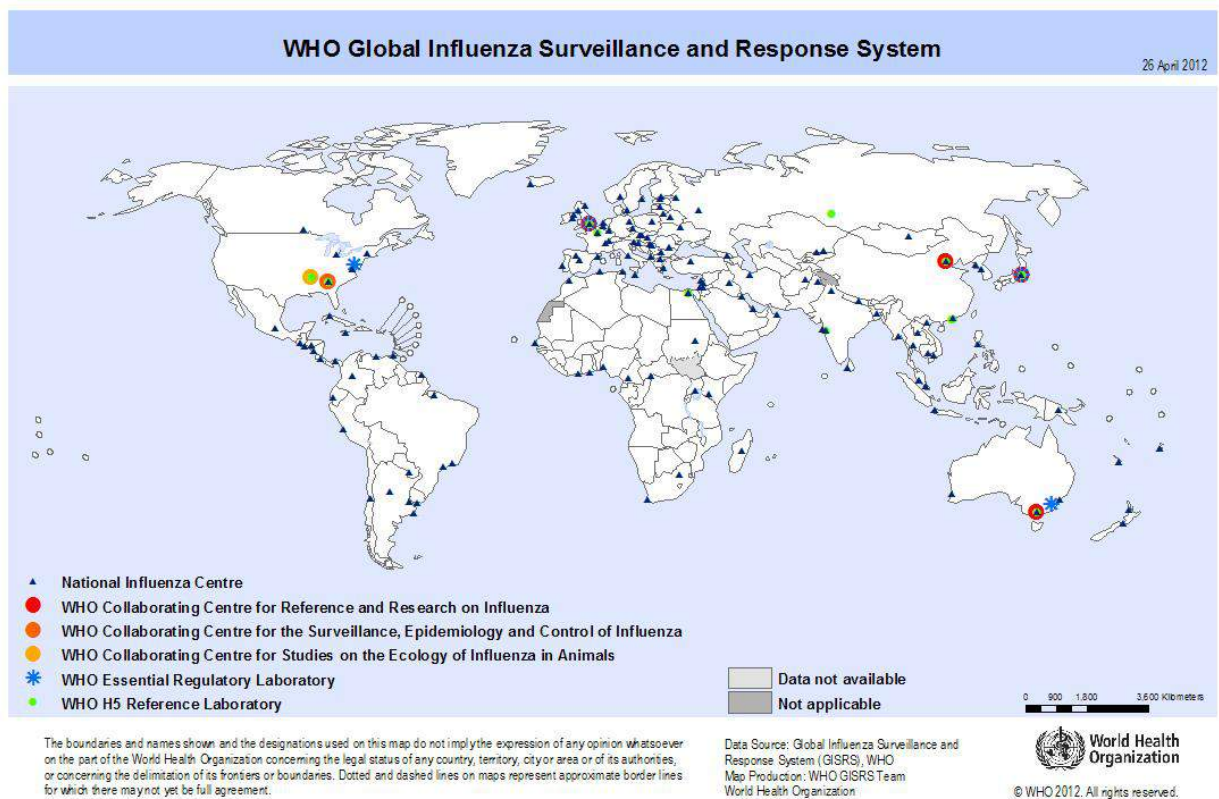


Fig. 14 Mapa de los centros colaboradores del GISRS. Tomado de la OMS. Disponible en http://www.who.int/gho/epidemic_diseases/influenza/virological_surveillance/en/

Conclusiones

- El virus de la gripe A es un virus de RNA cuyo genoma está fraccionado en 8 segmentos. Es un virus emergente y reemergente debido a la alta tasa de variabilidad genética. Ésta se debe a mutaciones puntuales de las proteínas víricas (“antigenic drift”) o a recombinaciones de segmentos de genomas de diferentes cepas (“antigenic shift”).
- La proteína NS1 del virus de la gripe es la principal proteína vírica responsable de inhibir la respuesta inmunitaria del hospedador.
- En los últimos 100 años se han producido 4 grandes pandemias de gripe A causadas por la aparición de nuevas cepas debido a zoonosis y a recombinaciones entre cepas humanas y animales.
- Las medidas actuales para combatir el virus de la gripe son la prevención mediante vacunación de grupos de riesgo con virus atenuados o inactivados, y el uso de antivirales que inhiben proteínas víricas como la amantadina (inhibe la liberación de la nucleocápsida) o el oseltamivir (inhibe la propagación del virus).
- La gripe A es responsable de la infección y muerte de cientos y miles de personas al año. Por ello, para disminuir las altas tasas de infección es necesario llevar a cabo programas de vigilancia internacional sobre la evolución y epidemiología del virus. Esta tarea la lleva a cabo el GISRS, una red de laboratorios internacionales coordinados por la OMS.

8. Bibliografía

1. Baumgarth, N., Carroll, M. C., & Gonzalez, S. (2013). Antibody-mediated immunity. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 283–297). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch18/summary>
2. Boivin, S., Cusack, S., Ruigrok, R. W. H., & Hart, D. J. (2010). Influenza A Virus Polymerase: Structural Insights into Replication and Host Adaptation Mechanisms. *Journal of Biological*

- Chemistry*, 285(37), 28411–28417. doi:10.1074/jbc.R110.117531
3. Cox, M. M. J., & Hollister, J. R. (2009). FluBlok, a next generation influenza vaccine manufactured in insect cells. *Biologicals*, 37(3), 182–189. doi:10.1016/j.biologicals.2009.02.014
 4. Crow, M., Deng, T., Addley, M., & Brownlee, G. G. (2004). Mutational Analysis of the Influenza Virus cRNA Promoter and Identification of Nucleotides Critical for Replication. *Journal of Virology*, 78(12), 6263–6270. doi:10.1128/JVI.78.12.6263-6270.2004
 5. Czudai-Matwich, V., Otte, A., Matrosovich, M., Gabriel, G., & Klenk, H.-D. (2014). PB2 Mutations D701N and S714R Promote Adaptation of an Influenza H5N1 Virus to a Mammalian Host. *Journal of Virology*, 88(16), 8735–8742. doi:10.1128/JVI.00422-14
 6. Falsey, A. R., Treanor, J. J., Tornieporth, N., Capellan, J., & Gorse, G. J. (2009). Randomized, Double-Blind Controlled Phase 3 Trial Comparing the Immunogenicity of High-Dose and Standard-Dose Influenza Vaccine in Adults 65 Years of Age and Older. *The Journal of Infectious Diseases*, 200(2), 172–180. doi:10.1086/599790
 7. Fechter, P., Mingay, L., Sharps, J., Chambers, A., Fodor, E., & Brownlee, G. G. (2003). Two Aromatic Residues in the PB2 Subunit of Influenza A RNA Polymerase Are Crucial for Cap Binding. *Journal of Biological Chemistry*, 278(22), 20381–20388. doi:10.1074/jbc.M300130200
 8. Fouchier, R. A. M., & Guan, Y. (2013). Ecology and evolution of influenza viruses in wild and domestic birds. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 173–189). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch11/summary>
 9. Francis Jr, T., Salk, J. E., Pearson, H. E., & Brown, P. N. (1945). Protective effect of vaccination against induced influenza A. *Journal of Clinical Investigation*, 24(4), 536.
 10. Gack, M. U., Albrecht, R. A., Urano, T., Inn, K.-S., Huang, I.-C., Carnero, E., ... García-Sastre, A. (2009). Influenza A Virus NS1 Targets the Ubiquitin Ligase TRIM25 to Evade Recognition by the Host Viral RNA Sensor RIG-I. *Cell Host & Microbe*, 5(5), 439–449. doi:10.1016/j.chom.2009.04.006
 11. Gao, H.-N., Lu, H.-Z., Cao, B., Du, B., Shang, H., Gan, J.-H., ... Li, L.-J. (2013). Clinical Findings in 111 Cases of Influenza A (H7N9) Virus Infection. *New England Journal of Medicine*, 368(24), 2277–2285. doi:10.1056/NEJMoa1305584
 12. Garciasastre, A. (2001). Inhibition of Interferon-Mediated Antiviral Responses by Influenza A Viruses and Other Negative-Strand RNA Viruses. *Virology*, 279(2), 375–384. doi:10.1006/viro.2000.0756
 13. Garten, R. J., Davis, C. T., Russell, C. A., Shu, B., Lindstrom, S., Balish, A., ... Cox, N. J. (2009). Antigenic and Genetic Characteristics of Swine-Origin 2009 A(H1N1) Influenza Viruses Circulating in Humans. *Science*, 325(5937), 197–201. doi:10.1126/science.1176225
 14. Harris, J. K., Mansour, R., Chouair, B., Olson, J., Nissen, C., Bhatt, J., & Brown, S. (2014). Health Department Use of Social Media to Identify Foodborne Illness—Chicago, Illinois, 2013–2014. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63(32), 681–685.
 15. Hayden, F. G., & deJong, M. D. (2013). Human influenza: Pathogenesis, clinical features, and management. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of*

- Influenza* (pp. 371–391). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch24/summary>
16. Ison, M. G., & Hay, A. (2013). Antivirals: Targets and use. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 392–418). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch25/summary>
 17. Iwasaki, A., & Peiris, M. (2013). Innate immunity. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 267–282). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch17/summary>
 18. Jefferson, T., Jones, M., Doshi, P., Spencer, E. A., Onakpoya, I., & Heneghan, C. J. (2014). Oseltamivir for influenza in adults and children: systematic review of clinical study reports and summary of regulatory comments. *BMJ*, *348*(apr09 2), g2545–g2545. doi:10.1136/bmj.g2545
 19. Jernigan, D. B., & Cox, N. J. (2013). Human influenza: One health, one world. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 1–19). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch1/summary>
 20. Karlsson, E. A., Marcelin, G., Webby, R. J., & Schultz-Cherry, S. (2012). Review on the impact of pregnancy and obesity on influenza virus infection: Obesity, pregnancy, and influenza. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, *6*(6), 449–460. doi:10.1111/j.1750-2659.2012.00342.x
 21. Keitel, W. A., Neuzil, K. M., & Treanor, J. (2013). Immunogenicity, efficacy of inactivated/live virus seasonal and pandemic vaccines. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 311–326). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch20/summary>
 22. Klenk, H. D., Garten, Wolfgang, & Matrosovich, M. (2013). Pathogenesis. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 157–172). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch10/summary>
 23. Krug, R. M., & García-Sastre, A. (2013). The NS1 protein: A master regulator of host and viral functions. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 114–132). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch7/summary>
 24. Lucas, G. N. (2013). Bird flu due to avian influenza A (H7N9) virus. *Sri Lanka Journal of Child Health*, *42*(3), 113–114.
 25. Matsumiya, T., & Stafforini, D. M. (2010). Function and regulation of retinoic acid-inducible gene-I. *Critical ReviewsTM in Immunology*, *30*(6). Retrieved from <http://www.dl.begellhouse.com/journals/2ff21abf44b19838,7bdc9a133b3ff311,12e985a646b5be01.html>
 26. Mehle, A., & McCullers, J. A. (2013). Structure and function of the influenza virus replication machinery and PB1-F2. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 133–145). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch8/summary>

27. Monto, A. S., & Webster, R. G. (2013). Influenza pandemics: History and lessons learned. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 20–34). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch2/summary>
28. Nair, H., Brooks, W. A., Katz, M., Roca, A., Berkley, J. A., Madhi, S. A., ... Campbell, H. (2011). Global burden of respiratory infections due to seasonal influenza in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 378(9807), 1917–1930. doi:10.1016/S0140-6736(11)61051-9
29. Nayak, D., Shivakoti, S., Balogun, R. A., Lee, G., & Zhou, Z. H. (2013). Structure, disassembly, assembly, and budding of influenza viruses. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 35–56). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch3/summary>
30. Neumann, G., & Kawaoka, Y. (2013). The genome and its manipulation: Recovery of the 1918 virus and vaccine virus generation. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 146–156). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch9/summary>
31. Nguyen-Van-Tam, J. S., & Bresee, J. (2013). Pandemic preparedness and response. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 453–469). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch28/summary>
32. Noble, E., Mathews, D. H., Chen, J. L., Turner, D. H., Takimoto, T., & Kim, B. (2011). Biophysical Analysis of Influenza A Virus RNA Promoter at Physiological Temperatures. *Journal of Biological Chemistry*, 286(26), 22965–22970. doi:10.1074/jbc.M111.239509
33. Nohynek, H., Jokinen, J., Partinen, M., Vaarala, O., Kirjavainen, T., Sundman, J., ... Kilpi, T. (2012). AS03 Adjuvanted AH1N1 Vaccine Associated with an Abrupt Increase in the Incidence of Childhood Narcolepsy in Finland. *PLoS ONE*, 7(3), e33536. doi:10.1371/journal.pone.0033536
34. Palese P. and Shaw M. L., (2007). Orthomixoviridae: The viruses and their replication. En *Fields Virology 5th Edition*. Chapter 47, pag 1651-1677, Knipe D. M. and Howley, P. M. Ed. Lippincott Williams and Williams.
35. Partinen, M., Saarenpää-Heikkilä, O., Ilveskoski, I., Hublin, C., Linna, M., Olsén, P., ... Kirjavainen, T. (2012). Increased Incidence and Clinical Picture of Childhood Narcolepsy following the 2009 H1N1 Pandemic Vaccination Campaign in Finland. *PLoS ONE*, 7(3), e33723. doi:10.1371/journal.pone.0033723
36. Pugliese, A., Beltramo, T., & Torre, D. (2008). Reye's and Reye's-like syndromes. *Cell Biochemistry and Function*, 26(7), 741–746. doi:10.1002/cbf.1465
37. Reid, A. H., Fanning, T. G., Hultin, J. V., & Taubenberger, J. K. (1999). Origin and evolution of the 1918 “Spanish” influenza virus hemagglutinin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(4), 1651–1656.
38. Reid, A. H., & Taubenberger. (2003). The origin of the 1918 pandemic influenza virus: a

- continuing enigma. *Journal of General Virology*, 84(9), 2285–2292. doi:10.1099/vir.0.19302-0
39. Shinya, K., Hamm, S., Hatta, M., Ito, H., Ito, T., & Kawaoka, Y. (2004). PB2 amino acid at position 627 affects replicative efficiency, but not cell tropism, of Hong Kong H5N1 influenza A viruses in mice. *Virology*, 320(2), 258–266. doi:10.1016/j.virol.2003.11.030
 40. Soubies, S. M., Volmer, C., Croville, G., Loupias, J., Peralta, B., Costes, P., ... Volmer, R. (2010). Species-Specific Contribution of the Four C-Terminal Amino Acids of Influenza A Virus NS1 Protein to Virulence. *Journal of Virology*, 84(13), 6733–6747. doi:10.1128/JVI.02427-09
 41. Taubenberger, J. K., Hultin, J. V., & Morens, D. M. (2007). Discovery and characterization of the 1918 pandemic influenza virus in historical context. *Antiviral Therapy*, 12(4 Pt B), 581.
 42. Taubengerger, J., & Morens, D. (2006). 1918 influenza: the mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis*, 12. Retrieved from http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/12/1/05-0979_article?iframe=true&width=100%25&height=100%25
 43. Treanor, J. J., Sahly, H. E., King, J., Graham, I., Izikson, R., Kohberger, R., ... Cox, M. (2011). Protective efficacy of a trivalent recombinant hemagglutinin protein vaccine (FluBlok®) against influenza in healthy adults: A randomized, placebo-controlled trial. *Vaccine*, 29(44), 7733–7739. doi:10.1016/j.vaccine.2011.07.128
 44. Wang, T. T., & Palese, P. (2013). Emergence and evolution of the 1918, 1957, 1968, and 2009 pandemic virus strains. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 218–228). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch14/summary>
 45. Wei, C.-J., Ekiert, D. C., Nabel, G. J., & Wilson, I. A. (2013). New approaches to vaccination. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 327–336). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch21/summary>
 46. Widdowson, M.-A., & Monto, A. S. (2013). Epidemiology of influenza. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 250–266). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch16/summary>
 47. World Health Organization, & WHO Global Influenza Surveillance Network. (2011). *Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza*. Geneva: World Health Organization.
 48. Zambon, M. (2013). Influenza surveillance and laboratory diagnosis. In R. G. W. FRS, A. S. M. MD, T. J. B. MD, & R. A. L. ScD (Eds.), *Textbook of Influenza* (pp. 229–249). John Wiley & Sons, Ltd. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118636817.ch15/summary>