



ACTUALIZACIÓN

ASPECTOS BÁSICOS, CLÍNICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS DE LA INFLUENZA

Basic, clinical and epidemiological aspects of influenza

Orlando Acosta L¹, Carlos A. Guerrero², Jorge A. Cortés³

1. Químico-Biólogo; MSc. en Bioquímica; PhD. en Virología Molecular, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
2. Médico Cirujano; MSc. en Farmacología; MSc. en Genética; PhD en Bioquímica, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
3. Médico Cirujano. Especialista en Medicina Interna e Infectología, DTMH. Departamento de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Correspondencia: oacostal@unal.edu.co

Resumen

En respuesta a la continua expansión del nuevo virus de influenza A H1N1, la Organización Mundial de la Salud (OMS) elevó mundialmente el nivel de alerta pandémica a Fase 6 el 11 de junio de 2009 y declaró que el mundo se encontraba en el comienzo de la pandemia de influenza 2009. El presente artículo revisa y actualiza algunas de las características moleculares de los virus de la influenza A, las cuales le permiten a estos virus evadir la respuesta inmune adaptativa de largo plazo. Se destacan especialmente las características antigénicas, genéticas y epidemiológicas del nuevo virus de influenza A H1N1 de origen porcino. Dado que la influenza es una infección viral asociada con morbilidad y mortalidad significativas, este artículo revisa algunos temas clínicos, tales como características clínicas, diagnóstico diferencial y complicaciones relacionadas con la influenza. La preocupante emergencia y expansión de cepas de los virus de la influenza A resistentes a drogas antivirales es presentada en el contexto del tratamiento de la influenza. Se enfatizan los efectos de la vitamina D sobre la inmunidad innata como una probable explicación para algunas de las incongruencias epidemiológicas de la influenza. Se concluye que la vigilancia mundial debe ser intensificada para ase-

gurar la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de la influenza.

Palabras clave: virosis, gripe humana, gripe aviar, subtipo H1N1 de virus de la influenza A, prevención y control (terapia preventiva), complicaciones, epidemiología.

Acosta O, Guerrero CA, Cortés JA. Aspectos básicos, clínicos y epidemiológicos de la influenza. *Rev.Fac.Med.* 2009; 57: 149-177.

Summary

In response to the continued expansion of the new influenza A H1N1 virus, on June 11, 2009 the World Health Organization (WHO) raised worldwide the pandemic alert level to phase 6 and declared the world to be at the start of the 2009 influenza pandemic. This article reviews and updates some of the molecular characteristics on the influenza A virus, which allow it to evade the long-term adaptive immune response. The antigenic, genetic and epidemiological characteristics of the new influenza A H1N1 of pig origin are particularly highlighted. Since influenza is a viral infection associated with significant morbidity and mortality, this articles touches on some clinical issues such as clinical features,



differential diagnosis and influenza-related complications. The worrisome expansion of influenza A virus strains with resistance to antiviral drugs is presented within the context of influenza treatment. The effects of vitamin D on innate immunity are emphasized as a likely explanation for some of the apparent epidemiologic inconsistencies of influenza. In conclusion, worldwide surveillance must be intensified

to ensure successful prevention, diagnosis and treatment of influenza.

Keywords: virus diseases, human influenza, influenza in birds, influenza A virus, H1N1 subtype, prevention and control, complications, epidemiology.

Acosta O, Guerrero CA, Cortés JA. Basic, clinical and epidemiological aspects of influenza. *Rev.Fac.Med.* 2009; 57: 149-177.

Introducción

La influenza junto con el resfriado común son los síndromes infecciosos más comunes en humanos producidos por la infección viral del tracto respiratorio superior. La influenza, también denominada gripa (“flu”), es una enfermedad infecciosa que presenta síntomas tales como escalofríos, fiebre alta, ardor de garganta, dolor muscular, cefalea severa, estornudo, tos seca, congestión nasal, rinorrea, sangrado nasal, debilidad, malestar general, diarrea y vomito, estos dos últimos más comunes en niños. Una mezcla compleja de citoquinas pro-inflamatorias y de mediadores de la defensa del organismo ha sido descrita como responsable de la generación de los síntomas (1). Pero puede ser una enfermedad mucho más severa cuando conduce a complicaciones como la neumonía o a la muerte. Sin embargo, se ha encontrado que en niños con probada infección por virus de la influenza, sólo un cuarto de ellos fueron clínicamente diagnosticados por sus médicos (2). La enfermedad tiene como agente etiológico los virus de la influenza en sus tres tipos denominados A, B y C, aunque en humanos la enfermedad es causada más comúnmente por los tipos A y B que se transmiten por aerosol entre humanos o por contacto con animales infectados.

Durante las epidemias estacionales, del 5-15 por ciento de la población mundial es infectada con

el virus de la influenza, lo que conduce a 3-5 millones de casos de enfermedad severa y hasta 500.000 muertes anuales (3), aunque históricamente la influenza ha sido responsable de millones de muertes a través el mundo. No obstante que la enfermedad afecta a grupos de todas las edades, la mayoría de las hospitalizaciones en los países industrializados corresponde a niños menores de cinco años, pacientes inmunocompetentes y adultos mayores de 65 años, mientras que la mayoría de las muertes ocurre en este último grupo. El ausentismo laboral y los costos médicos directos anualmente tienen un impacto económico estimado para Estados Unidos en alrededor de 12-14 billones de US \$ dólares (4).

Transmisión

La planificación para afrontar una inminente pandemia de influenza incluye los esfuerzos de prevención de la transmisión del virus de la influenza. Sin embargo, no existe acuerdo acerca de la manera como el virus de la influenza es transmitido entre humanos. La investigación experimental y epidemiológica parece indicar que existe limitación en los datos con relación a la identificación de los modos específicos de transmisión en los eventos naturales (5). La transmisión del virus de la influenza a través de gotas, del aire o del contacto directo, recientemente ha sido objeto de discusión a propósito de la impor-

tancia de determinar sin ambigüedad la contribución relativa de cada de estas vías de transmisión y de ponderar los factores ambientales que incidirían en la inactivación del virus (6). La transmisión a través de gotas grandes (partículas con diámetros mayores de 5 μm) implica que el afectado hable, tosa o estornude produciendo directamente un "spray" sobre la conjuntiva o las membranas mucosas del hospedero susceptible. En la transmisión aérea, núcleos de gotas suspendidas en el aire (partículas aéreas con diámetro menor de 5 μm) van descendiendo lentamente y durante ese trayecto son respirables y pueden transmitirse directamente al alveolo.

En el caso de transmisión por contacto, ésta puede ocurrir indirectamente por contacto con secreciones frescas sobre utensilios u objetos inanimados, o directamente a través del contacto físico ente un individuo infectado y otro susceptible. Sin embargo, no existe acuerdo sobre el límite tajante entre gotas grandes y núcleos de gotas, especialmente en la definición de su diámetro aerodinámico (7). Una revisión de la literatura sobre la transmisión del virus de la influenza entre humanos parece sugerir que ésta ocurre principalmente a través de distancias cortas (menos de 1 m entre el individuo infectado y el susceptible) que implican la vía de gotas grandes y el contacto antes que a través de distancias largas (más de 1 m entre los individuos implicados) a través del aire (5). La comprensión plena de los modos de transmisión comprende la necesidad de información desde la estructura de la partícula viral hasta aspectos del comportamiento humano y la organización social (6). La distribución del tamaño de los aerosoles respiratorios, los cambios ocurridos después de la expulsión, la inhalación subsecuente, la concentración del patógeno y los mecanismos de inactivación del virus son todos ellos factores que presentan dificultades en los estudios empíricos (6,8,9,10).

El papel de las variables humedad relativa (HR) y temperatura ha sido considerado en la inactivación del virus de la influenza presente en aerosoles. Sin embargo, con relación a la HR los estudios han mostrado resultados contradictorios, en gran medida derivados de las diferencias en las metodologías utilizadas en los estudios; mientras que para el caso de la temperatura se ha encontrado que la baja temperatura incrementa la supervivencia del virus a cualquier HR (6). En algunos casos se ha encontrado que el virus en aerosoles sobrevive bien a baja HR, pero es rápidamente inactivado a mediana y alta HR. En otros estudios se ha mostrado aumento de la supervivencia a alta o baja HR, comparado con un mínimo de supervivencia a HR intermedia (6). En países tropicales no se ha encontrado una correlación entre épocas de alta precipitación fluvial y actividad del virus de la influenza. La estacionalidad de los brotes de influenza en esta región sugiere que la actividad del virus de la influenza no es determinada exclusivamente por la HR en aerosoles (11,12). Se ha sugerido que en la región tropical el virus de la influenza sería transmitido predominantemente por contacto, mientras que en las regiones templadas prevalecería la transmisión a través el aire (13).

La inactivación del virus en el ambiente también es parte de la controversia, especialmente su persistencia en las epidemias estacionales (14). La tasa de inactivación del virus se calcula considerando el título inicial y final, y el tiempo transcurrido; se expresa en unidades de \log_{10} por unidad de tiempo en días. En otras publicaciones sólo se menciona el tiempo de supervivencia, entendido como el tiempo al cual el virus no es detectado, sin otras precisiones. Se han reportado tiempos de supervivencia entre una hora (80% HR) y 24 horas (20% HR). Sobre la supervivencia del virus de la influenza A depositado sobre superficies de vidrio, se han mostrado



tasas de inactivación entre 38/día (20% HR y 20 °C) y 77/día (80% HR y 20 °C), lo cual indica dependencia de la supervivencia del virus con relación a la HR (6,15). También se han considerado algunos polutantes y la radiación ultravioleta (UV) de la luz solar. El efecto virucida natural de la radiación UV de la luz solar ha sido ampliamente reconocido (16,17). La tasa de inactivación esperada para el virus de la influenza A en varias ciudades del mundo, de acuerdo con la radiación UV natural, se ha estimado entre despreciable y 21/día (6). En las ciudades ubicadas en altas latitudes, durante el invierno las tasas de inactivación generalmente se ubican en menos de 2.3/día, lo que implicaría que el virus proveniente de aerosoles podría sobrevivir varios días (18). La magnitud de la inactivación debida a la radiación UV ha sido estimada alrededor del mismo orden de magnitud de la ocasionada por la HR (6).

Descripción molecular del agente etiológico

Los tres tipos de virus de la influenza (A, B y C) representan tres de los cinco géneros de la familia *Orthomyxoviridae*. Aunque genéticamente estos virus tienen un ancestro común, han experimentado un grado de divergencia tal que la recomposición genómica (“reassortment”) (intercambio de segmentos genómicos entre virus) reportada solo ocurre entre virus del mismo género o tipo (19). El genoma de los virus de la influenza A y B consiste de ocho segmentos de RNA genómico de sentido negativo que codifican 11 proteínas (20,21). Los segmentos uno, tres, cuatro y cinco codifican las proteínas PB2, PA, HA (hemaglutinina) y NP, respectivamente. La subunidad PB1 de la RNA polimerasa dependiente de RNA es codificada por el segmento dos. En algunas cepas del virus de la influenza A, este segmento codifica además, en otro marco de lectura alternativo, una proteína

accesoria PB1-F2. La proteína NA (neuraminidasa) en los virus de la influenza A es codificada por el segmento seis, mientras que en los virus de la influenza B este segmento codifica además, en un marco de lectura alternativo, la proteína de la matriz NB, la cual corresponde a la proteína M2 del virus de la influenza A (22). El segmento siete de los virus de la influenza A y B codifica la proteína de la matriz M1, aunque en el caso del virus de la influenza A la proteína del canal iónico M2 también es expresada por este segmento, previo procesamiento (“splicing”) de RNA (23). La proteína antagonista del interferón, NS1, de los virus de la influenza A y B es expresada por el segmento ocho (24), así como la proteína NP/NS2, previo procesamiento de RNA (25).

En la superficie lipídica de la partícula viral se encuentran las proteínas HA, NA y M2. El precursor de HA (HA₀) es sintetizado como un sólo polipéptido que debe ser fragmentado en dos polipéptidos, HA₁ y HA₂, unidos por un enlace disulfuro. Esta modificación post-traducciona, necesaria para la infectividad, es llevada a cabo por la acción de una serín-proteasa específica del hospedero. Los aminoácidos presentes en el sitio de corte proteolítico son muy importantes en la determinación de la virulencia del virus (26). La HA tiene dos regiones estructurales distintas. La porción HA₁ contiene el sitio para la unión al receptor de ácido siálico y también los sitios antigénicos para la unión de anticuerpos. La porción HA₂ participa en la fusión de la cubierta lipídica del virus con la membrana de la célula hospedera (26). Los anticuerpos del hospedero dirigidos contra epítopes de HA neutralizan la infectividad del virus.

Como parte del proceso de entrada del virus, después de la unión de HA al ácido siálico, el virus es endocitado. El bajo pH del endosoma promueve cambios conformacionales en HA y

la exposición del péptido HA₂ que media la fusión de la cubierta lipídica del virus con la membrana del endosoma. Además, los protones del endosoma son bombeados dentro del interior de la partícula viral a través del canal iónico conformado por la proteína M2, lo que desestabiliza las interacciones proteína-proteína del interior de la partícula viral. Los inhibidores de este canal evitan que la ribonucleoproteína (RNP) sea liberada en el citoplasma (27). Una vez el virus se ha replicado y está en la etapa de salida de la célula hospedera para infectar otras células, la enzima NA participa en la liberación de las partículas virales que permanecen unidas a la membrana celular a través de HA durante el proceso de gemación. La actividad de neuraminidasa remueve los residuos de ácido siálico terminales. Los inhibidores de la NA o los anticuerpos del hospedero dirigidos contra ella interfieren la liberación de las partículas virales a partir de las células infectadas.

El receptor de ácido siálico comúnmente se encuentra dispuesto terminalmente en glicoconjugados. El carbono 2 de ácido siálico se puede unir covalentemente al átomo de carbono 3 ó 6 de la galactosa, para formar los enlaces α 2,3 o α 2,6. La HA presenta afinidades diferenciales por estas conformaciones alternativas del ácido siálico. Los enlaces α 2,6 predominan en las células epiteliales de la tráquea en humanos, mientras que los enlaces α 2,3 son más comunes en las células del epitelio intestinal de pato. Sin embargo, ácido siálico terminal con enlaces α 2,3 también se encuentra en el epitelio respiratorio humano aunque en menor proporción (28), lo que hace a los humanos susceptibles a infección con virus de influenza aviar aunque con baja eficiencia (29).

Los virus de la influenza A son los que tienen más subtipos de acuerdo con los antígenos presentes en las proteínas de la superficie viral

HA y NA (30). Se conocen 16 subtipos de HA y nueve subtipos de NA en el virus de la influenza A (31). Muchas combinaciones de HA y NA son posibles, y cada combinación configura un diferente subtipo de virus. Sin embargo, actualmente circulan en humanos los subtipos H1 y H3.

Drift antigénico

El “drift” antigénico se refiere a cambios menores (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos en HA y NA) que producen cambio en el sitio antigénico de la glicoproteína. “Drift” antigénico es la evolución gradual de las cepas virales en términos de las mutaciones sufridas en la secuencia de su genoma (32). La selección de esas mutaciones que confieren capacidad de evasión del sistema inmune del hospedero ocurre en promedio entre dos a ocho años (33,34). Aunque el evento molecular de mutación tiene lugar cada vez que el genoma viral es replicado, solo ciertas mutaciones puntuales pueden afectar los sitios de unión de los anticuerpos a la proteína HA o a la proteína NA, o a ambas proteínas (35,36). Dentro de la dinámica mutacional, la mayoría de las mutaciones son “neutras” y no afectan la conformación de las proteínas; sólo cuando las mutaciones afectan los sitios de unión de los anticuerpos, los virus circulantes portadores de estas mutaciones no pueden ser inhibidos efectivamente por los anticuerpos inducidos por infecciones previas, viéndose así favorecida la expansión del virus en la población (37).

La co-circulación de variantes por “drift” antigénico de los virus de influenza A (H1) y B con múltiples linajes co-existentes, permite la reaparición de cepas viejas; mientras que los virus del subtipo de la influenza A (H3) sufren “drift” antigénico mucho más frecuentemente y las nuevas variantes tienden a reemplazar las viejas (33,38). Las tasas de sustitución a nivel



nucleotídico son indicativas de que las proteínas de la superficie del virus tienden a cambiar más que las otras proteínas. Se ha encontrado que hasta un 35 por ciento de las sustituciones ocurren sólo en 18 de 329 codones del virus de la influenza A (H3), con una tasa de mutación en estos 18 sitios de 0.053 sustituciones por sitio por año. Una sustitución de un nucleótido en un codón (tres nucleótidos) podría eventualmente conducir a un cambio del correspondiente aminoácido codificado por este codón. Estas tasas de sustitución de nucleótidos podría estar demostrando la importancia de un pequeño grupo de codones para la evolución del virus de la influenza (39). En esta región se han identificado cinco sitios o epítopes de unión para anticuerpos (40), de donde se ha concluido que el “drift” antigénico que implica mutaciones en estos epítopes puede tener un impacto significativo sobre la capacidad de la proteína H3 para enlazar anticuerpos neutralizantes.

Shift antigénico

El “shift” antigénico se refiere a la formación de un nuevo subtipo de virus de la influenza con HA y NA mezcladas, provenientes de diferentes subtipos. Este “shift” antigénico surge en los virus de influenza cuando un subtipo de HA (y menos frecuentemente un subtipo NA) es reemplazado con un nuevo subtipo, lo cual puede reducir la efectividad de la vacuna tipo (41). Al surgimiento del “shift” antigénico contribuye notablemente la recomposición genómica (“reassortment”), la cual ocurre especialmente en la co-infección con diferentes subtipos A del virus de la influenza. Cuando dos o más virus de influenza genéticamente diferentes co-infectan una misma célula, es posible que durante el evento de replicación y ensamblaje se generen partículas virales que contengan segmentos genómicos de RNA mezclados (“reassorted”), lo que podría conducir, sin necesidad de muta-

ción, a que se generen partículas virales con propiedades antigénicas nuevas. Esta recomposición genómica da origen a un nuevo virus que no había estado antes circulando en la población humana o al menos en las décadas precedentes. Este nuevo virus eventualmente puede tener un impacto en términos de morbilidad y mortalidad, ocasionando una epidemia a nivel mundial con muertes que pueden fluctuar entre cientos de miles y algunos millones (40). La frecuencia de la ocurrencia de un “shift” antigénico se ha estimado en tres veces durante un período de 100 años (42), lo cual se ha asociado con las pandemias de 1918, 1957 y 1968, aunque la pandemia de 1918 ha sido atribuida muy probablemente a la adaptación al humano de un virus similar al aviar (43,44).

La delimitación entre “drift” y “shift” antigénico puede ser en alguna medida conceptual, de tal manera que el “shift” antigénico puede contribuir al “drift” antigénico y una vez ocurrido el “shift” antigénico, este es susceptible de “drift” antigénico. Las actuales cepas del virus de la influenza son variantes a través de “drift” antigénico de las cepas pandémicas pasadas. También es posible la ocurrencia de “shift” antigénico en las co-infecciones con virus de la influenza del subtipo A de diferentes especies, lo cual puede conducir a la emergencia de nuevos subtipos del virus de la influenza con diferencias antigénicas sustanciales que eventualmente podrían generar pandemias. De estos eventos de recomposición genómica se deriva la factibilidad de la creación de nuevas cepas virulentas a partir de subtipos humanos y aviares del virus de la influenza.

Una de las mayores preocupaciones del momento es la posibilidad de que el virus de la influenza aviar A H5N1 pueda, a través de “drift” antigénico, adquirir una alta eficiencia de transmisión entre humanos y de esta manera dar ori-

gen a una pandemia. Sin embargo, a pesar del considerable “drift” antigénico (45) y “shift” antigénico (46,47) sufridos por el virus de la influenza aviar A H5N1 desde su primer aislamiento en 1996, aun no ha adquirido la capacidad de transferirse eficientemente de humano a humano. Se ha establecido que el linaje del virus de la influenza aviar A H5N1, actualmente expandido a 60 países, ha experimentado extensiva recomposición genómica con virus de diferentes fuentes para dar origen a numerosos genotipos H5N1 y también ha dado origen a múltiples linajes distintos (46).

Presión selectiva y cambios antigénicos

Los modelos sobre la evolución molecular del virus de la influenza se han centrado especialmente en la HA. La rápida evolución del virus de la influenza presenta dificultades para el óptimo mantenimiento de la eficiencia de las vacunas. Esta evolución presenta dificultades en el reconocimiento y predicción de las amenazas epidemiológicas presentes y futuras. Una de las mayores fuentes de información sobre posibles amenazas futuras de la influenza es el estudio de su historia como un patógeno en evolución. El análisis de cómo el virus evoluciona para evadir la respuesta inmune puede dar indicios de cómo el sistema inmune ha tratado con el virus en el pasado y como el virus puede cambiar en el futuro para evadir su eliminación (48).

La dinámica evolutiva del surgimiento de cambios en las propiedades antigénicas de los virus de la influenza tiene como fundamento la ocurrencia de mutaciones aleatorias durante la replicación del RNA viral, donde algunas de estas mutaciones conducen a cambios en la secuencia de aminoácidos de la proteína correspondiente (especialmente en HA), con impacto en sus propiedades de reconocimiento por parte

de anticuerpos específicos inducidos en el organismo del hospedero. Se ha propuesto que la presión ambiental selectiva inmune para estas variantes antigénicas experimenta cambios significativos que se suceden preferencialmente durante los momentos de mayores cambios en estas propiedades antigénicas (48). En otros términos, la presión ambiental selectiva inmune del hospedero juega un papel seleccionador de cambios antigénicos en los sitios determinantes del reconocimiento de la HA (48), que le permiten a la nueva variante antigénica escapar a las defensas del hospedero y expandirse en la población susceptible. Parece que la relación entre el virus de la influenza y el hospedero cambia con el tiempo, de tal manera que los cambios en las propiedades antigénicas (“drift”/“shift”) se deben entender como cambios en esta relación (48).

Se sugiere que el virus de la influenza y el sistema inmune del hospedero están desarrollando diferentes mecanismos para contrarrestarse el uno al otro a través de un proceso de incesante coevolución (49). Los sitios del genoma que sufren cambios en presión selectiva están ubicados en su mayoría en regiones de la proteína que sufren evolución adaptativa, es decir, en sitios antigénicos o cerca a estos sitios, que son los que sufren sustituciones de aminoácidos que caracterizan el cambio en antigenicidad del virus (48).

La evolución de la secuencia del polipéptido HA₁ conduce a un “drift” antigénico, en la medida en que las propiedades antigénicas propias de esta proteína cambian con el tiempo. Las sustituciones de aminoácidos producen como resultado cambios en la capacidad de los anticuerpos para neutralizar el virus, bien sea a través de la interferencia de la unión del anticuerpo o cambiando algunas propiedades asociadas como la unión al receptor, así que un antisuero producido en respuesta a un virus tiene efectividad reducida con-



tra un virus futuro (26). La magnitud en que se reduce la efectividad puede ser utilizada como una medida de la diferencia entre las propiedades antigénicas de los dos virus.

Como un ejemplo ilustrativo, las propiedades antigénicas del subtipo H3 cambian de una manera discontinua a través del tiempo (34). Estos cambios discontinuos se ejemplifican al encontrarse que por períodos de dos a cinco años la evolución de la secuencia de polipéptido HA₁ del subtipo H3 tiene poco efecto sobre las interacciones virus-anticuerpo, así que el “drift” antigénico se encuentra confinado a un grupo un tanto definido de variantes de secuencia con propiedades antigénicas similares, lo que ha sido referido como un “cluster” antigénico. Periódicamente, sin embargo, el cambio en la secuencia de aminoácidos da origen a un cambio significativo en las propiedades antigénicas, conduciendo a un salto hacia un nuevo “cluster” antigénico (34,48).

En otros términos, algunos cambios en la secuencia de aminoácidos del subtipo H3 tendrían cambios insignificantes en sus propiedades antigénicas, mientras que otros cambios de aminoácidos cerca al sitio antigénico o de unión de anticuerpos serían más importantes (26,33). También se ha interpretado que cada “cluster” antigénico representa una manera particular de interacción entre el virus y el hospedero, materializada en la naturaleza y localización de la unión de anticuerpos. Cambios en los aminoácidos en algunos sitios del subtipo H3 podrían causar saltos de un “cluster” antigénico a otro, lo que representaría un cambio en la relación virus hospedero (33, 48).

Como parte de esta interpretación, se espera que el cambio antigénico así ocurrido se corresponda con modificaciones en la presión selectiva del hospedero sobre las proteínas virales.

Influenza de 1918

Los virus de la influenza A causan brotes anuales en humanos y animales, periódicamente surgen nuevas variantes que ocasionan pandemias. Al virus pandémico de la influenza española de 1918-1919 infectó cientos de millones y produjo la muerte de aproximadamente 50 millones de personas (43). La polimerasa del virus de la influenza A está constituida por un heterodímero conformado por las proteínas PB2, PB1 y PA. Se ha encontrado que este complejo además de participar en la replicación del virus, interacciona con factores del hospedero, lo que confiere un papel en la especificidad de hospedero (50,51). Las secuencias de aminoácidos de las proteínas que conforman la polimerasa del virus de la influenza de 1918 difieren de las secuencias de consenso aviares en solamente unos pocos aminoácidos, lo que es compatible con la hipótesis de que estas secuencias fueron derivadas de fuentes aviares poco antes del evento pandémico.

Se propone que el virus responsable de esta pandemia no surgió de recomposición genómica (redistribución de segmentos genómicos) sino muy probablemente como un virus similar a los aviares que se adaptó al hospedero humano (44). Los virus pandémicos de la influenza de 1957 y 1968 surgieron de recombinaciones (redistribución de segmentos genómicos) entre virus aviares y humanos en los cuales dos o tres segmentos genómicos aviares fueron recombinados con los virus humanos adaptados en ese momento (52).

Un total de 10 cambios aminoacídicos diferencian consistentemente las proteínas de la polimerasa del virus de la influenza de 1918 y de las variantes subsecuentes, de las secuencias de aminoácidos aviares. Se ha destacado que varios de los mismos cambios se han encontra-

do en los virus circulantes de la influenza aviar A H5N1 (44), los cuales se han considerado como una amenaza pandémica potencial.

El virus de la influenza que causó la pandemia de 1918 ha sido reconstruido en el laboratorio mediante la utilización de la genética reversa para obtener un virus de la influenza con sus ocho segmentos genómicos (53). Este virus tiene como característica distintiva la de poderse replicar en la ausencia de tripsina y su excepcional virulencia en el pulmón ha sido atribuida no sólo a una característica genética en particular sino a la interacción de varias propiedades que surgen como consecuencia de la expresión de sus genes y su interacción con la estructura genética y bioquímica del individuo infectado.

Influenza Aviar

Los virus de la influenza generalmente tienden a ser específicos de especie. Sin embargo, ocasionalmente pueden desbordar las barreras entre las especies. Recientemente se ha observado que en uno de estos eventos ocasionales, una cepa aviar altamente patogénica del virus de la influenza A H5N1 produjo enfermedad severa en humanos. Desde 2003, el número de países afectados y de casos confirmados con influenza A H5N1 se ha incrementado, contabilizándose los casos de infección en 433 y las muertes en 262, según las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) hasta junio 2/2009 (54,55,56), con una tasa de casos fatales de alrededor de 60 por ciento. Existe preocupación por la probabilidad de que este virus pueda mutar o recomponer (“reassort”) su genoma para dar origen a una versión fácilmente transmisible entre humanos, amenazando así con generar una pandemia.

El virus de la influenza aviar A H5N1 se presenta naturalmente en aves. Las aves silvestres a

través del mundo portan estos virus en el intestino, pero generalmente estos virus no les producen enfermedad. La relación evolutiva y ecológica entre virus de la influenza A y las aves silvestres ha creado una diversidad genética viral y un reservorio de virus potencialmente transmisibles a especies aviares y eventualmente a los humanos (57). El virus de la influenza aviar es muy contagioso entre las aves y eventualmente puede producir enfermedad y muerte en aves domesticas como pollos, patos y pavos (58). Brotes de virus de la influenza aviar altamente patogénicos (HPAI) han sido confirmados a través del mundo desde finales del siglo XIX (59).

Patogénesis

El virus de la influenza una vez accede al tracto respiratorio se une y replica en las células epiteliales del tracto respiratorio superior e inferior. El evento de replicación combinado con la respuesta inmune a la infección conduce a la lesión y pérdida de las células que revisten el tracto respiratorio. Una vez la infección ha sido superada, el epitelio es regenerado (60). La influenza puede conllevar complicaciones del tracto respiratorio superior e inferior. Estas complicaciones pueden incluir bronquitis, sinusitis, otitis media. En la neumonía primaria viral el virus se replica en las células del epitelio alveolar ocasionando la ruptura de las paredes del alveolo y los bronquiolos. La apoptosis observada en las células epiteliales de los alveolos parece jugar un papel mayor en la patogénesis, especialmente en el caso de infecciones con el virus de la influenza A H5N1, lo que causaría neumonía y destrucción de linfocitos, ocasionando leucopenia (61).

La dinámica de la infección puede variar dependiendo de la cepa viral y el estado del sistema inmunológico del paciente. Aunque los factores virales y del hospedero que determinan la restricción del hospedero y las manifestaciones



de la enfermedad no han sido totalmente elucidados, los hallazgos en el caso del virus de la influenza aviar A H5N1 (62, 63) son ilustrativos de la patogénesis de la influenza. El virus de la influenza aviar A H5N1 infecta específicamente células del epitelio pulmonar, pero además, el virus puede infectar otros órganos como la tráquea, el intestino y el cerebro, y puede penetrar la barrera placentaria e infectar el feto (64). La unión preferencial del virus de la influenza A H5N1 al receptor con ácido siálico unido de la forma $\alpha 2,3$ presente en las células de aves, parece prevenir la unión de este virus y de otros virus de influenza de aves, a las células humanas (65). Sin embargo, algunos virus de influenza A H5N1 aislados de humanos han adquirido por mutación la capacidad de unirse tanto a receptores con ácido siálico en la forma $\alpha 2,3$ como en la forma $\alpha 2,6$ (66), pero estas mutaciones parecen ser insuficientes para la eficiente transmisión de humano a humano (67). Parece que se requiere de cambios en múltiples genes para generar un virus de la influenza A H5N1 potencialmente pandémico.

Comúnmente se había asumido que era muy improbable que los virus de la influenza aviar se replicaran eficientemente en humanos. Sin embargo, desde 1997 varios casos de infecciones en humanos con diferentes subtipos (H5N1, H7N7 y H9N2) de virus de la influenza aviar fueron identificados e introdujeron la amenaza potencial de una pandemia de influenza aviar en humanos. Aunque la transmisión de este virus entre humanos parece haber sucedido solo circunstancialmente, el virus aislado de humanos carece de la capacidad para transmitirse eficientemente de humano a humano (21). Recientemente se reportó un hallazgo que explica porque el virus de la influenza aviar H5N1 es letal en humanos pero ineficiente en la transmisión humano a humano (68,69). Se informó que los humanos tienen receptores con ácido siálico

unido a galactosa de la forma $\alpha 2,6$ a través del tracto respiratorio humano desde la nariz hasta los pulmones, pero también tienen receptores con ácido siálico de la forma $\alpha 2,3$ en los alveolos y en sus alrededores, en la región profunda de los pulmones. Por lo tanto, el virus de influenza A H5N1 infecta preferencialmente células en el tracto respiratorio más bajo (inferior) donde induce daño severo a los pulmones y poco implica el tracto respiratorio más alto (superior).

Respuesta del hospedero

En pacientes con infección fatal con el virus de la influenza A H5N1, comparados con pacientes con influenza convencional, se han encontrado niveles elevados de quimoquinas atrayentes de macrófagos y neutrófilos y citoquinas tanto pro-inflamatorias como anti-inflamatorias (interleuquina-6, interleuquina-10, interferon-g) (70). Se ha observado una correlación positiva entre la magnitud de la carga viral en la faringe y los niveles de citoquinas y quimoquinas. En ensayos *in vitro* con macrófagos y neumocitos primarios se ha evidenciado inducción diferencial de múltiples citoquinas por parte del virus de la influenza A H5N1 en comparación con el virus humano de la influenza (71). Esto ha sugerido que una elevada producción viral estaría determinando los elevadísimos niveles de citoquinas.

El daño tisular ocasionado por la infección con el virus de la influenza A H5N1 podría deberse a los efectos combinados de la infección viral no restringida y a la respuesta inflamatoria inducida por la infección con este virus (67). En modelos animales utilizando macacos, se ha observado que el virus de la influenza A H5N1 es excepcional por la gran extensión del daño tisular, los altos niveles de citoquinas y la interferencia de los mecanismos regulatorios del sistema inmune, lo que explicaría su extrema virulencia en

humanos (72). La infección preferencial de neumocitos tipo II y la extensión de la infección en el tracto respiratorio inferior, podrían explicar la virulencia del virus de la influenza A H5N1, así como su asociación con una exacerbada respuesta inmune del hospedero (72). La desregulación de las citoquinas y las quimoquinas parece ser el mecanismo central en la patogénesis del virus de la influenza A H5N1 (64).

Diagnóstico de laboratorio

Además de las medidas de contención para los virus de la influenza, la sensibilidad de los ensayos de detección para efectos de un diagnóstico temprano es de capital importancia para la disminución del riesgo de diseminación y desarrollo de eventuales pandemias (73). La detección del RNA viral mediante transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) convencional o en tiempo real es mejor método para el diagnóstico inicial del virus de influenza (73,74,75). El resultado puede ser obtenido entre cuatro y seis horas y puede ser realizado bajo condiciones de bioseguridad de nivel dos (BSL2). La variabilidad genética de los virus de la influenza (55,76) requiere frecuente actualización de los “primers” (cebadores) y las sondas. Por lo tanto el acceso a la secuencia de los aislamientos virales más recientes es esencial. Recientemente se ha descrito un método para caracterizar subtipos de virus de la influenza aviar utilizando análisis de huella digital de masa de fragmentos de restricción (RFMF), en el cual los fragmentos genómicos amplificados que codifican las regiones determinantes de la patogenicidad del gen de la HA son digeridos con enzimas de restricción y los productos de la digestión analizados en espectrometría de masas (77).

Para detectar virus de influenza A es conveniente utilizar un gen conservado de virus de influenza A, como por ejemplo el gen de la proteí-

na de la matriz o el gene de la nucleoproteína (67). Para el caso del virus de la influenza aviar A H5N1, el diagnóstico es más conveniente con muestras de garganta en comparación con frotis (con hisopos, copitos) nasal, debido a que la mayor carga de este virus se encuentra en la garganta (70,78), aunque la recolección de ambos especímenes es recomendada. Cuando es posible, los aspirados traqueales tienen mucho más altos títulos virales comparados con aquellos de las muestras del trato respiratorio superior. La recolección repetida de múltiples tipos de muestras es recomendada (79,80,81).

Los ensayos rápidos comercialmente disponibles para la detección del antígeno de la influenza, basados en fluorescencia y ELISA, tienen poca sensibilidad y especificidad para la detección del virus de la influenza A H5N1 (73,78,79,82) y además no pueden diferenciar entre subtipos humanos y aviares del virus de la influenza.

Sin embargo, un estudio comparativo de 6 “kits” de detección de antígeno para varios subtipos de influenza A, incluyendo los subtipos H1N1, H5N1 y H3N2, indicó que la sensibilidad analítica fue comparable para los virus aviares y humanos, mientras que todas estas pruebas de detección de antígeno tuvieron una sensibilidad mil veces menor que la detección del virus utilizando la técnica de cultivo (83).

Recientemente se ha introducido un ELISA de captura basado en anticuerpos monoclonales contra HA y NA, el cual puede detectar específica y simultáneamente epítopes en ambas proteínas (84). La determinación de anticuerpos contra el virus de la influenza A H5N1 es esencial para estudios epidemiológicos y para efectos de confirmación retrospectiva del diagnóstico. La seroconversión generalmente tiene lugar dos o tres semanas después de la infección.



Tratamiento

La NA, una glicoproteína de la superficie del virus implicada en la liberación de los viriones durante el proceso de gemación a partir de la célula infectada, ha sido uno de los blancos potenciales de la acción de los antivirales contra la influenza. Se han desarrollado varios inhibidores específicos de la NA mediante diseño racional basado en la estructura, aunque solo dos cuentan con aprobación para uso en humanos: oseltamivir (Tamiflu) y zanamivir (Ralenza). También se han licenciado para uso en humanos amantadina y rimantidina, inhibidores del canal iónico M2.

No obstante, la actual terapia farmacológica contra influenza no es totalmente satisfactoria. La resistencia a amantadina exhibida por los virus de la influenza A se ha asociado con mutaciones en los aminoácidos de las posiciones 26, 27, 30, 31 o 34 de la proteína M2. Estas mutaciones han mostrado un incremento en su prevalencia, especialmente en aislamientos del virus de la influenza A H3N2 comparado con los aislamientos de la influenza A H1N1 (85). Recientemente el CDC (Centers for Disease Control and Prevention) reportó que el 92.3 por ciento de las cepas de influenza A H3N2 eran resistentes a amantadina y rimantidina, como consecuencia de la mutación S31N (86). En diciembre de 2008 el CDC también informó sobre la resistencia a oseltamivir presente en la gran mayoría de los aislamientos correspondientes a virus de influenza A H1N1 estacionales (86,87). Estos aislamientos presentaron la mutación H274Y (cambio de histidina a tirosina en la posición 274 de la NA) que confiere resistencia a oseltamivir sin afectar la susceptibilidad a zanamivir o la virulencia. Zanamivir es activo contra variantes resistentes a oseltamivir que presentan la mutación H274Y o N294S en la neuraminidasa N1 (88).

La alta tasa de mutación y la aparición de resistencia a los antivirales comerciales, particularmente el notable incremento de la frecuencia de aislamientos virales circulantes resistentes a oseltamivir (89,90,91), ha preocupado con relación a una posible expansión del virus de la influenza aviar A H5N1 a través de la transmisión entre humanos. Este hecho reclama el desarrollo de medicamentos antivirales más potentes para ser utilizados en la profilaxis y el tratamiento de las infecciones con este virus. Métodos de detección molecular de mutantes resistentes a oseltamivir utilizando RT-PCR en tiempo real han sido introducidos (92,93). Se han desarrollado técnicas combinatorias asistidas por computador útiles como guías racionales para el diseño de análogos de oseltamivir (94).

Influenza porcina

La influenza porcina es una enfermedad respiratoria aguda causada por el virus de la influenza A. Actualmente tres subtipos principales del virus de la influenza circulan en poblaciones de cerdos a través del mundo: subtipos H1N1, H3N2 y H1N2 (95). Estos incluyen la influenza porcina clásica H1N1, la influenza parecida a la aviar H1N1, la influenza parecida a la humana o parecida a la aviar H3N2, la influenza de recomposición genómica (“reassortment”) H3N2 y varios genotipos de virus de la influenza H1N2 (95, 96). Estos virus han permanecido en gran medida endémicos en poblaciones de cerdos a través del mundo y han sido responsables de una de las más prevalentes enfermedades respiratorias en cerdos.

El epitelio de la tráquea de los cerdos expresa receptores para virus de la influenza humana y aviar, lo que hace susceptible al cerdo a los virus de la influenza humana y aviar (97). Por lo tanto, los cerdos pueden funcionar como hospederos intermediarios para el establecimiento de

nuevos linajes de virus de influenza al dar soporte a co-infecciones, replicación, y recomposición genómica (“reassortment”) entre virus de la influenza humanos, aviares y porcinos (98). Los virus de la influenza humana H1N1 pueden infectar cerdos y la transmisión cerdo a cerdo ha sido demostrada en condiciones experimentales (95). Estudios epidemiológicos sugieren que las cepas prevalentes del virus de la influenza humana H1N1 son fácilmente transmitidas a cerdos y ocasionalmente estos virus han sido aislados (99). Recientemente se reportó la coexistencia en cerdos de virus de la influenza similares a humanos de brotes de alrededor del año 2000 y del año 1980 (99), lo que sugiere que los cerdos podrían ser reservorios de virus de pandemias humanas pasadas. El cerdo puede ser un reservorio de virus de influenza relativamente estables en términos genéticos (96).

En 2007 en Estados Unidos se pudo establecer que un virus de la influenza A H1N1 aislado de cerdos fue capaz de infectar humanos, de acuerdo con la información obtenida de la secuencia de su genoma (100). Este virus aislado de cerdos correspondió a un triple recombinante (“triple reassortant”) (TR) A H1N1 que contuvo genes de linajes de virus de influenza humana (PB1), porcina (HA, NA, NP, M y NS) y aviar (PB2 y PA). Veintiséis personas que estuvieron en contacto con cerdos infectados desarrollaron enfermedad respiratoria y en dos casos se confirmó en pruebas de laboratorio que estaban infectados con el virus de la influenza A H1N1. Virus similares se han aislado anteriormente de humanos en Estados Unidos (101,102). En un período relativamente corto de tres años, se observó “drift” genético en tres virus TR de cerdo en los genes que codifican HA y NA, aunque sus propiedades antigénicas fueron similares (100).

Alrededor de 1998, los virus de la influenza clásica porcina se recomposieron genéticamente

(“reassort”) con un virus contemporáneo de la influenza humana A H3N2 y con un virus de la influenza aviar de linaje norteamericano pero de subtipo desconocido, lo que dió como resultado la aparición de un virus de influenza porcina TR H3N2 (rH3N2) en poblaciones de cerdos (103,104,105). Se supone que una posterior recomposición genética (“reassortment”) entre el virus TR rH3N2 con el virus de la influenza porcina clásica H1N1 dió origen a los nuevos virus TRs porcinos A H1N1 y A H1N2 (106). Recientemente también se han detectado TR de virus de influenza en poblaciones de cerdos en Asia (105,107). Desde 1999 se ha reportado una variación antigénica en varios virus TR porcinos H1 (106).

Influenza A (H1N1) de origen porcino (S-OIV) 2009

En México durante abril 22-24 de 2009 se confirmó en varios pacientes la presencia de infección con un virus nuevo de influenza A H1N1 (108), el cual había sido previamente identificado (abril 15-17 de 2009) en dos niños en Estados Unidos (109,110). Después del anuncio de la OMS (abril de 2009) sobre la emergencia de una nueva cepa del virus de influenza A H1N1, que no había circulado previamente entre humanos, la OMS decidió el 11 de junio de 2009 elevar el nivel de alerta de la influenza pandémica de fase cinco a fase seis, declarando que el mundo se encontraba en el comienzo de la pandemia de influenza 2009 (111). La declaratoria de la OMS precisó que este nuevo virus de influenza se transmitía fácilmente de persona a persona, contabilizándose a junio 22 de 2009 un total de 52,160 casos acumulados confirmados para influenza A H1N1 en 99 países, incluyendo 231 casos fatales (112). Se anotó que entre un tercio a un medio de las infecciones severas y fatales implicaban personas sanas jóvenes y de edad intermedia. Aunque esta pandemia en sus



comienzos se ha juzgado de severidad moderada, su severidad podría variar de un país a otro, dependiendo de varios factores. Aun hay varias regiones y comunidades donde el nuevo virus no ha causado infección o está empezando a hacerlo. Se recomienda realizar un cuidadoso monitoreo en regiones como el hemisferio sur, el cual está entrando en la fase estacional de la influenza. La evolución de la transmisibilidad, la virulencia, la antigenicidad y la resistencia a los antivirales es muy difícil de predecir para los virus de influenza. Se hace difícil anticipar si esta nueva cepa viral desplazará los actuales subtipos A de influenza, como sucedió en las tres pasadas pandemias (113). Clínicamente, la severidad de la actual pandemia parece ser mucho menor que aquella de 1918, pero comparable con aquella de la pandemia de 1957 (113), presentando una tasa de casos fatales de alrededor de 0.3-0.4 por ciento y una transmisibilidad un poco mayor que los virus de influenza estacionales (113,114).

En Estados Unidos se han identificado desde hace más de una década virus de influenza porcina TRs que contienen genes de virus de influenza humana, porcina y aviar (115,116), se ha detectado una docena de casos de infección en humanos con estos virus TRs en Estados Unidos entre 2005 y 2009 (117). En abril de 2009, el CDC identificó en dos casos en humanos el nuevo virus de influenza AH1N1 de origen porcino (“swine-origin influenza virus”: S-OIV) caracterizado por una particular combinación de segmentos genómicos que no había sido identificada antes en humanos o cerdos (110). Se destacó que los dos pacientes no estaban epidemiológicamente relacionados y que ninguno de ellos había estado recientemente en contacto con cerdos. Un análisis filogenético de secuencias del material genético de 49 aislamientos de este nuevo virus indicó que seis segmentos genómicos (PB2, PB1, PA, HA, NP y NS)

fueron similares a los genes de TRs de virus de influenza porcina que habían circulado en cerdos de Estados Unidos (110). Dos genes que codifican las proteínas NA y M fueron muy similares a genes de virus obtenidos de cerdos afectados en Eurasia. De acuerdo con el origen previo de los genes del TR de virus de influenza porcina implicado, el nuevo S-OIV contendría los genes PB2 y PA de origen aviar, el gene PB1 originado del virus estacional H3N2, los genes HA, NP y NS originados de la influenza porcina clásica, y los genes NA y M de virus influenza porcina de Eurasia (110). Esta combinación genética no había sido observada antes ni en cerdos ni en humanos en Estados Unidos ni en otro lugar del mundo (105). Los TRs de influenza porcina A (H1) previamente caracterizados en Estados Unidos tuvieron una composición genética distinta (110), la cual es descrita en la sección inmediatamente anterior.

Se debe señalar que los genomas de los virus de influenza de las tres últimas pandemias (1918 H1N1, 1957 H2N2, y 1968 H3N2) se originaron como un todo o en parte de reservorios no humanos (105) y sus genes de HA, en última instancia, se derivaron de virus de influenza aviar. También, es importante anotar que mientras los virus de influenza AH1N1 humanos han sufrido un significativo “drift” antigénico en H1, los virus de influenza porcina clásica H1N1 han mostrado un relativo estancamiento antigénico hasta 1998, esto ha producido una brecha antigénica substancial entre la H1 de virus de influenza porcina clásica y la H1 de virus de influenza estacional humana (105), de donde se ha concluido que el cerdo se ha convertido en un reservorio de virus H1 con potencial de causar brotes respiratorios significativos o pandemias en humanos.

Se ha precisado que la HA de este nuevo S-OIV pertenece al mismo linaje del gene encon-

trado en TRs de virus de influenza porcina A (H1) que recientemente han infectado humanos, pero no obstante, difiere en 20 a 30 aminoácidos en la sola región HA₁. La NA de S-OIV tiene una estrecha homología con virus de influenza porcina de Eurasia y su linaje es altamente divergente con relación a los recientes TRs de influenza porcina de Estados Unidos (110). De acuerdo con los datos derivados de los análisis de secuencias de genes y de ensayos funcionales de inhibición de NA, los aislamientos hasta el momento caracterizados son susceptibles a oseltamivir y zanamivir. Por el contrario, el gene que codifica para la proteína M presente en las muestras de este nuevo virus S-OIV presentó la mutación serina31asparagina, la cual confiere resistencia a los bloqueadores de M2, tales como amantadina y rimantadina (110), lo cual ha sido típico de linajes de virus de influenza porcina recientes de Eurasia. El nuevo virus de influenza A (H1N1) ha sido identificado en casos adicionales mediante un RT-PCR estandarizado en tiempo real y cultivo del virus (75) y numerosos aislamientos virales de diferentes partes del mundo han sido recientemente secuenciados (118).

Un aspecto enfatizado por Garten y colaboradores (105) se relaciona con la ausencia de similitud entre el actual virus de la influenza A H1N1 con sus más cercanos parientes, lo cual indica que sus segmentos genómicos han estado circulando por un largo tiempo sin ser detectados. Su diversidad genética relativamente baja sugiere que su introducción a la especie humana desde otra especie tuvo lugar a través de un solo evento o de varios eventos con virus similares. El análisis genético también muestra que los virus de la influenza A H1N1 actuales carecen de marcadores moleculares que sugieran una adaptación a los humanos, lo cual apunta a la existencia de mecanismos moleculares hasta el momento desconocidos que permitan expli-

car la transmisión entre humanos. De acuerdo con sus propiedades antigénicas, los nuevos aislamientos virales de la influenza A H1N1 son homogéneos y similares a los virus porcinos de influenza A H1N1 pero distintos de los virus de influenza estacionales A H1N1 (105).

A través de varios siglos, las pandemias de influenza en humanos han ocurrido cada 10-50 años. Dado que la última pandemia ocurrió en 1968, ya se anticipaba que la próxima pandemia podría ocurrir en cualquier momento (119). La magnitud de un desastre pandémico potencial requiere preparación y acciones, lo cual ha estimulado la consideración de estrategias de control y mitigación no farmacológicas que puedan modificar el curso, la severidad y la extensión de un eventual brote pandémico de influenza (120). Tempranamente se anticipó que el nuevo virus de la influenza A H1N1 podría representar la mayor amenaza pandémica desde la aparición del virus de la influenza A (H3N2) de 1968 (110). La continua identificación de nuevos casos en varios países sugiere una sostenida transmisión persona a persona de este nuevo virus. Conceptualmente, una pandemia de influenza tiene lugar cuando un virus de influenza con una HA, contra la cual existe poca o ninguna inmunidad, emerge en la población humana, presentando una alta eficiencia de transmisión de humano a humano (105).

Aspectos clínicos

Cuadro clínico

La infección por influenza resulta fundamentalmente en síntomas respiratorios. La tasa de ataque (es decir, la frecuencia con que en 100 individuos expuestos se adquiere la infección) puede oscilar entre 25 por ciento y más del 70 por ciento (121). Bajo condiciones epidémicas esta tasa ha sido calculada entre 15 y 35 por ciento



Tabla 1. Frecuencia de síntomas en pacientes con influenza

Síntomas	Influenza estacional (%)	Influenza A nuevo subtipo H1N1 (%)
Fiebre	68-86	87-94
Tos	84-98	77-92
Dolor faríngeo	75-84	33-82
Mialgia	60-94	33-35
Cefalea	70-91	17-81
Malestar	73	7-80
Vómito		15-46
Diarrea		10-28
Disnea		14-43
Expectoración		14

(122). Esta posibilidad de adquirir influenza depende de varios factores como nivel previo de inmunidad, inóculo de exposición y otra serie de variables sociales (número e intensidad de los contactos). Esta tasa también se ha relacionado, por supuesto, con la virulencia y los mecanismos moleculares virales, que mejoran su posibilidad de adherirse al epitelio respiratorio de los individuos y aumenta la secreción viral.

Una vez infectado el individuo ocurre un período asintomático (período de incubación) que tiene una duración promedio de dos días. A partir de este momento se observa un aumento en la replicación viral y la secreción de partículas virales por el epitelio respiratorio que son coincidentes con la severidad de los síntomas (60). En estudios con voluntarios sanos, entre 80 y 92.8 por ciento de los infectados tienen secreción viral. La secreción viral parece ser más baja en individuos infectados con influenza B (80%), que aquellos con influenza A H2N2 (84%), H3N2 (92%) y H1N1 (92,8%). No se ha calculado para el nuevo subtipo de influenza la proporción de pacientes que tienen secreción viral.

A pesar de la alta correlación entre secreción viral y síntomas, no todos los pacientes con se-

creción viral presentan síntomas. En los estudios de individuos sanos infectados con influenza (60) la presencia de cualquier síntoma entre los pacientes infectados ocurre en 62.3 por ciento de aquellos con influenza A H3N2, 62.5 por ciento de aquellos con influenza B, 69.3 por ciento de aquellos con influenza A H1N1 y 77.4 por ciento de los que tienen influenza A H2N2. Para el nuevo subtipo de influenza A H1N1 la frecuencia de infección sintomática ha sido calculada en 86 por ciento (113). Este hecho es una de las limitantes importantes a la hora de contener la progresión de una epidemia, sea esta estacional o por un virus nuevo, ya que existe una proporción de individuos que secretan el virus pero no desarrollan síntomas.

La tabla 1 muestra la frecuencia de ciertos síntomas entre los pacientes con influenza estacional (123) y aquellos con influenza A por el nuevo subtipo H1N1, basado en las descripciones iniciales de los países afectados (110,114). De los datos de los estudios clínicos se hace evidente la alta frecuencia de síntomas de carácter inespecífico como fiebre, tos, dolor faríngeo, mialgias, cefalea y malestar general. La mayoría de pacientes tendrán síntomas sugestivos de una infección viral aguda, que comúnmente denominamos gripa en Colombia y

México y gripe en la mayor parte del mundo hispano (del francés *grippe*).

Un estudio europeo mostró la incapacidad de los médicos para diagnosticar en base a los datos clínicos la presencia de influenza (124), incluso durante una temporada epidémica. En la excelente revisión de Call y colaboradores sobre el diagnóstico clínico de influenza (123) no se identifican síntomas que permitan hacer más probable el diagnóstico. Además se hace evidente que existen amplios rangos de frecuencia para algunos de los síntomas, especialmente entre los individuos mayores de 60 años.

Esta dificultad para identificar a los pacientes con influenza, aún durante las temporadas epidémicas estacionales, ha llevado a introducir definiciones epidemiológicas que permitan evaluar la aparición de los casos en una región geográfica. De allí los términos “enfermedad similar a influenza” e “infección respiratorio aguda”, que corresponden a términos epidemiológicos sin una precisa correlación clínica.

En los primeros grupos de pacientes estudiados con el nuevo subtipo de influenza A H1N1, se ha identificado un subgrupo de pacientes con claros síntomas gastrointestinales como náuseas, vómito y diarrea (Tabla 1). Esto ha hecho aún más complicada la identificación clínica de los pacientes, ya que amplía las posibilidades del diagnóstico diferencial.

Los síntomas sistémicos tienen su pico de expresión hacia el segundo día posterior a la inoculación y suelen resolver antes que los síntomas respiratorios. El 21 por ciento de los pacientes presenta tos, disnea o dolor torácico durante algún momento de la evolución. La duración de los síntomas en pacientes sin complicaciones es inferior a cinco días. Sin embargo, existen variaciones sobre la duración de los sínto-

mas y la secreción viral, especialmente en niños (125), individuos inmunosuprimidos y posiblemente, en individuos con mayor severidad de su enfermedad.

Individuos en riesgo de complicaciones por influenza

Algunos grupos de pacientes tienen una mayor probabilidad de complicaciones una vez que se presenta la infección por influenza. Entre ellos se encuentran los pacientes con falla cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y otras patologías pulmonares crónicas, enfermedad renal, diabetes, enfermedad reumática, demencia y eventos cerebro vasculares previos (126). La presencia de un factor de riesgo aumenta la probabilidad de hospitalización o muerte por influenza entre dos y 30 veces, en comparación con individuos sin riesgo en el mismo grupo etario. También se ha observado un aumento en el riesgo de complicaciones cardio-pulmonares entre mujeres embarazadas, especialmente durante el tercer trimestre, durante los períodos epidémicos. Los pacientes inmunosuprimidos y específicamente, los pacientes con infección por VIH, pueden tener una mayor frecuencia de hospitalización y una mayor mortalidad. Los pacientes con trasplante de médula ósea tienen una mayor mortalidad (cercana al 50%), especialmente debida a neumonía viral o bacteriana, la cual se puede presentar hasta en dos terceras partes de estos pacientes (127).

En la actual epidemia de influenza A H1N1 se ha identificado con mayor frecuencia la infección en individuos jóvenes. En Canadá y Gran Bretaña la edad media de los individuos identificados se encontró entre 22 y 27 años (114). En Estados Unidos 60 por ciento de los identificados tenían menos de 18 años (110). La frecuencia de comorbilidad fue mayor entre los in-



dividuos que requirieron hospitalización, sin embargo, parece ser menor que lo esperado en las epidemias de influenza estacional.

Complicaciones respiratorias de influenza

La influenza puede presentarse con complicaciones pulmonares. Una de éstas es la neumonía por influenza. Durante los períodos inter-pandémicos es más frecuente en individuos con alguna forma de patología cardíaca o pulmonar previa. La progresión a neumonía se caracteriza por hallazgos clínicos usuales (estertores localizados) con infiltrados visibles radiográficamente. La tasa de requerimiento de UCI puede ser del 16 por ciento, con requerimiento de apoyo ventilatorio mecánico en 10 por ciento y una mortalidad del 6 por ciento (128). En Colombia, se ha documentado a los virus de influenza A y B como responsables de 10 por ciento de los casos de neumonía con microorganismo identificado (129). Durante la presente pandemia por virus de Influenza A H1N1 la frecuencia de hospitalización entre los pacientes estadounidenses fue 9 por ciento, de los cuales 50 por ciento presentaban infiltrados radiográficos compatibles con neumonía (110). La tasa de hospitalización en Canadá fue de 3 por ciento y en Gran Bretaña del 2 por ciento (114) y se desconoce la frecuencia con la que se presentó como neumonía.

Otra complicación pulmonar de la infección por influenza es la posterior aparición de neumonía bacteriana. Esta puede aparecer entre cuatro y 14 días posteriores a la resolución inicial de los síntomas (126). Los microorganismos más frecuentemente identificados en estos pacientes incluyen neumococo, *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*. La neumonía por *S. aureus* puede ser especialmente severa y acompañarse de síndrome de choque tóxico. En las últimas temporadas también se ha observado un incremento en este grupo de infecciones

ocasionadas por *S. aureus* resistente a meticilina, con una alta mortalidad en Estados Unidos (130). La influenza puede ser responsable de hasta el 25 por ciento de las exacerbaciones en los pacientes con EPOC (131).

Mortalidad por influenza

La mortalidad en exceso observada durante las epidemias de influenza puede ser directamente relacionada al virus, por la presencia de neumonía (15%) o exacerbaciones de EPOC (14%), o por complicaciones cardiovasculares (23%) (132). Durante la temporada de influenza es posible observar un aumento en la frecuencia de muertes por enfermedad coronaria.

En Tailandia, un estudio reciente, diseñado inicialmente para identificar casos de influenza aviar, encontró una mortalidad del uno por ciento entre los pacientes identificados (133). Los pacientes mayores de 50 años representaban el 45 por ciento de los que fallecieron y 32 por ciento menores de 10 años. Se encontró comorbilidad en 71 por ciento de los que murieron. Como se mencionó previamente, la edad, la presencia de hipertensión, patología cardiovascular y enfermedad pulmonar crónica se asoció con un mayor probabilidad de muerte. De forma interesante, el uso de oseltamivir se asoció con una menor probabilidad de fallecer (razón de probabilidades 0.11, intervalo de confianza del 95% 0.04 - 0.3). En Colombia se ha reportado que una tercera parte de los decesos asociados con infección respiratoria aguda y severa son ocasionados por virus influenza (134).

En el inicio de la pandemia por influenza A nuevo subtipo H1N1 la mortalidad reportada en los Estados Unidos fue de 0.3 por ciento (110). Los datos de México, el país con mayor mortalidad hasta el momento son difíciles de interpretar ya que fue el primer país afectado; aunque

estimativos iniciales sugieren que también tiene una frecuencia de 0.4 por ciento (113). La edad media de los individuos que fallecieron en México fue de 31 años, 46 por ciento de ellos con comorbilidad (114).

Vacuna

La infección con virus de la influenza desencadena una serie de respuestas inmunológicas que contrarrestan la invasión del virus. En esta respuesta se ha observado que los anticuerpos juegan un importante papel en la protección contra la infección con influenza (135). Las propiedades antigénicas del virus de la influenza son determinadas por HA y NA (136). El polipéptido HA₁ es el principal blanco de la acción de la inmunidad mediada por anticuerpos (26) y tiene una mayor tasa de sustitución de aminoácidos que HA₂ (26). La inmunidad inducida por HA incrementa la resistencia del hospedero a la influenza y reduce la probabilidad de infección y severidad (137). Sin embargo esta protección no es efectiva contra nuevos virus de influenza emergentes que contengan variaciones antigénicas descritas como “drift” y “shift” antigénicos (138). En el caso de la HA del subtipo H3 se han identificado cinco sitios antigénicos (139,140).

Las vacunas actuales contra el virus de la influenza disponibles anualmente contienen dos cepas de tipo A y una B, tienen la capacidad de inducir fuerte respuesta de anticuerpos contra las glicoproteínas de superficie HA y NA. Aunque estas vacunas son protectoras contra los virus vacunales, ellas no son efectivas contra nuevos virus emergentes que tienen variaciones antigénicas. Como es común en los virus de RNA, los antígenos de HA y NA son altamente variables, lo que hace difícil el control de nuevas epidemias de influenza. En la naturaleza se seleccionan cambios antigénicos en los puntos determinantes del antígeno en HA, lo cual produ-

ce cambios en la antigenicidad del virus (49). Recientemente se ha desarrollado una nueva tecnología en la cual las células plasmáticas que secretan anticuerpos IgG⁺ específicos para influenza pueden ser aisladas y clonadas directamente de los humanos vacunados, para producir anticuerpos monoclonales de alta afinidad en pocas semanas después de la vacunación. Esta tecnología es prometedora para el desarrollo de terapia pasiva efectiva con anticuerpos para limitar la diseminación de la enfermedad (49,141).

El virus de la influenza evade el sistema inmune del hospedero exhibiendo una evolución continua a través de los procesos de “drift” y “shift” antigénicos, lo cual puede ocurrir en menos de un trimestre (38,142). Una sola infección con influenza es suficiente para producir inmunidad a lo largo de la vida contra la cepa particular infectante. Sin embargo, mutaciones producidas durante la replicación del genoma viral o las variaciones introducidas por recomposición genómica (“reassortment”) son eventualmente seleccionadas por su característica de evadir el sistema inmune, lo que da origen a variantes genéticas o cepas con nuevas propiedades antigénicas. La emergencia de estas nuevas cepas determina que la mayoría de la población que había sido previamente infectada con virus de influenza ahora será susceptible en pocos años a una nueva cepa circulante (143). Esta dinámica genética del virus de la influenza ha sido afrontada mediante revisión de la vacuna cada estación de la influenza, llevada a cabo por un panel de expertos de la OMS en ambos hemisferios. Este procedimiento apunta a asegurar la vacuna corresponda con las cepas circulantes y que produzca una protección inmunogénica confiable (144). Con base en las recomendaciones de la OMS emitidas 9 - 12 meses antes de la estación objeto de la protección, se seleccionan tres cepas para su inclusión en la vacuna. Debido a que pueden ocurrir cambios antigénicos



en el virus en los meses entre la recomendación y la aplicación de la vacuna, la efectividad de la vacuna se puede ver comprometida en alguna medida.

La relación entre el “drift” antigénico y la vacunación ha sido un objeto de permanente preocupación, ubicándose en la frontera entre la evolución molecular y la salud pública. Esto impone que esta relación sea exhaustivamente examinada en ambos contextos (142), considerando los efectos recíprocos entre el “drift” antigénico y la vacunación. Se ha sugerido la importancia de mejorar la detección del “drift” antigénico en cada evento de influenza estacional, el monitoreo de la actualización de la vacuna al final de la estación, y la consideración de la relación entre “drift” antigénico y vacunación en el contexto de la circulación global de cepas de influenza y el establecimiento de las epidemias locales y regionales (142). La importancia de la vacuna se ha sustentado en términos de la reducción del tamaño de la epidemia, sobre la base de modelos que indican que la variabilidad de las nuevas cepas epidémicas depende de la cantidad de virus circulante en el momento (36), aunque virus de la influenza con una alta tasa de innata de variación antigénica siempre tendrán la capacidad de invadir una población susceptible.

El “drift” antigénico ha conducido a que la OMS haya tenido que cambiar sus recomendaciones sobre el contenido de la vacuna de la influenza cuatro veces para los virus de la influenza A (H3) y B, y dos veces para el virus de la influenza A (H1) desde la estación 1998-1999 (38). Sin embargo, no es siempre posible la correspondencia total de las cepas contenidas en la vacuna con aquellas circulantes. Dado que la producción de la vacuna con las tecnologías corrientes puede demorar hasta seis meses, cualquier nueva variante surgida en ese tiempo escaparía a la producción de su correspondiente

vacuna (38). Sin embargo, se debe destacar que el impacto del “drift” antigénico sobre la efectividad de las vacunas varía de una estación a otra. Aunque aparentemente la variación antigénica de las cepas puede reducir la efectividad de una vacuna, no todas las variaciones antigénicas en las cepas virales evaden la inmunidad inducida por la vacuna en la población (38,145, 146).

Algunos grupos poblacionales, como los adultos mayores, son más susceptibles a la influenza y sus complicaciones. En algunos estudios se ha encontrado que la protección conferida por la vacuna es muy poca, lo que ha sugerido la necesidad de mayores estudios sobre el efecto del “drift” antigénico en diferentes grupos etarios (38). La vacunación se constituye en una prioridad, pero varios temas deben ser abordados para introducir mejoras en las vacunas para una mejor protección de los infantes, los inmuno-suprimidos y los adultos mayores. Se requiere el desarrollo de una vacuna universal no sólo para el virus de la influenza estacional sino para afrontar las epidemias y las pandemias.

Enigmas epidemiológicos

De manera general se ha asumido que la influenza es producida por un virus altamente infeccioso. Sin embargo, hace más de dos décadas esta aseveración fue cuestionada por Edgar Hope-Simpson (147), quien postuló la existencia de un estímulo estacional no identificado a propósito de los significativos efectos de la radiación solar sobre la influenza. Desde entonces, se han planteado varias incógnitas epidemiológicas de difícil respuesta (148). Los interrogantes epidemiológicos sobre el virus de la influenza abarcan el por qué de su estacionalidad y ubicuidad- dónde permanece entre una epidemia y otra; el explosivo comienzo de las epidemias y su abrupta terminación; la

frecuente sincronía de las epidemias en países de latitudes similares; el intervalo serial poco claro; la baja tasa de ataques secundarios aun dentro de una misma familia; la expansión tan rápida de las epidemias en épocas pretéritas a pesar de la carencia de medios de transporte modernos; el sorprendente porcentaje de voluntarios seronegativos quienes escapan a la infección o desarrollan solamente una enfermedad menor después de haber sido inoculados con un virus de influenza nuevo para ellos; la contradicción entre los estudios epidemiológicos que cuestionan la efectividad de la vacuna y los ensayos controlados aleatorios que muestran la efectividad de la vacuna (148).

Los anteriores interrogantes han conducido a concluir que la epidemiología de la influenza no es consistente con una enfermedad altamente infecciosa mantenida por una cadena de transmisión sin fin de un individuo afectado a otro sano (149). La caracterización de las fuerzas específicas que dirigen la aparición y desaparición de las epidemias de influenza ha constituido un verdadero desafío para epidemiólogos y virólogos (148,150). Una hipótesis inicial para explicar algunas de las incongruencias epidemiológicas mencionadas, consistió en que un pequeño número de individuos portadores latentes altamente infecciosos, pero asintomáticos, de manera muy rápida se podrían convertir en altamente contagiosos por un estímulo estacional (147, 149). Este estímulo estacional se ha asociado con las fluctuaciones estacionales de los niveles de 25-hidroxi-vitamina D, debido a la interferencia que estas fluctuaciones tendría sobre los sistemas de péptidos antimicrobiales (AMPs), los cuales son fundamentales en la inmunidad innata (151,152,153).

Los humanos obtienen la mayoría de la vitamina D la exposición a la luz solar antes que de la dieta. La proporción de la población con defi-

ciencia de vitamina D varia en cualquier momento y dentro de una estación y en cualquier latitud, aunque la proporción con deficiencia aumenta durante el invierno, en los adultos mayores, los obesos, los privados de sol, los de piel oscura y en las poblaciones ubicadas hacia el polo (154,155). También se han observado fluctuaciones estacionales de vitamina D aun en poblaciones localizadas en latitudes ecuatoriales (156), probablemente debido a varios factores que afectan la exposición efectiva a la luz solar (148).

En ensayos controlados aleatorios (RCT), recientemente se han presentado los dramáticos efectos preventivos de la vitamina D sobre el resfriado común y la influenza (157). La inmunidad innata, a diferencia de la inmunidad adaptativa, responde rápidamente a microorganismos a través de efectores genéticamente codificados que están disponibles para ser activados rápidamente por un antígeno, antes de que el organismo se haya encontrado con ese antígeno. Entre los efectores mejor estudiados se encuentran los AMPs (158). Tanto el tejido epitelial como las células sanguíneas fagocíticas producen AMPs y actúan produciendo daño en la membrana lipoprotéica de los microorganismos objetivo. En particular, la AMP beta-defensina 3 inhibe la fusión mediada por la hemaglutinina A, al unirse al componente de carbohidrato de esta proteína viral (159).

Introduciendo como hipótesis que la infectividad de los individuos infectados presenta una marcada variación y que la deficiencia de vitamina D es el estímulo estacional, se han tratado de resolver varios de los enigmas epidemiológicos de la influenza (148). Sobre la estacionalidad de la influenza y su aparición simultánea en países de latitud similar, se ha argumentado que los efectos estacionales sobre la inmunidad innata permitirían las epidemias estacionales en las re-



giones de alta latitud, aunque serían menos predecibles en las regiones tropicales, pero también dependerían de la novedad del virus, su virulencia, su transmisibilidad y la inmunidad innata de la población. La ocurrencia de los efectos predecibles del otoño y el invierno en las regiones de alta latitud (pero menos efectos predecibles en los países tropicales) conduciría a que una proporción de la población no inmune se convierta súbitamente en una población susceptible, dándole así una línea de base al virus de la influenza. Después de establecida la epidemia, la rápida disminución de la población con inmunidad innata y adaptativa deficientes explicaría la abrupta desaparición de la influenza (148). La afectación de la inmunidad innata podría incrementar la transmisión al incrementar el número de buenos transmisores. En los casos en que los buenos transmisores (con síntomas o sin ellos) conforman un número relativamente pequeño y su período de transmisión es limitado, la epidemia podría terminar rápidamente después de que los buenos transmisores pierdan su infectividad.

Las dificultades en establecer el intervalo serial y las bajas tasas del ataque secundario se han tratado de explicar destacando que solamente una parte de la población infectada (los buenos transmisores) es infectiva. Por lo tanto, si el período de infectividad de los buenos transmisores es limitado y si solamente una subpoblación de los individuos infectados transmite la enfermedad, se hace difícil establecer el intervalo serial y la tasa de ataque secundario, sin la identificación de ese grupo de buenos transmisores (148). Por otra parte, la inoculación experimental de voluntarios seronegativos con el virus de la influenza sin producir una enfermedad consistente, ha sido explicada en términos de variaciones en la inmunidad innata de los individuos voluntarios, así como de variaciones en los niveles individuales de vitamina D (148).

Con relación al incremento de las tasas de vacunación durante los últimos 20 años sin un descenso en la mortalidad por influenza de los adultos mayores, se ha intentado explicar indicando que probablemente la inmunidad innata en esta fracción de la población ha disminuido debido a las advertencias gubernamentales y médicas sobre los peligros de la exposición a luz solar. Se ha asumido que los jóvenes tienden a ignorar estas advertencias, mientras que los adultos mayores tienden a tenerlas en consideración (160). Se ha sugerido que las mejoras en la inmunidad adaptativa a través de la vacunación contra el virus de la influenza de los últimos lustros no compensan la pérdida de inmunidad innata de los adultos mayores durante este mismo período (148).

Conclusiones

El virus de la influenza, responsable de uno de los síndromes infecciosos más comunes en humanos, presenta su información genética dividida en ocho segmentos genómicos, lo cual le permite recomponerse genéticamente en co-infecciones con otros virus de influenza. Adicionalmente, dada la naturaleza química de sus segmentos genómicos, RNA y la magnitud de la fidelidad inherente a su replicación, el virus de la influenza puede obtener variabilidad genética a través de la fijación de mutaciones, que en el evento de ser exitosas ante la presión selectiva inmune, pueden dar origen a cepas virales con nuevas propiedades antigénicas, frente a las cuales la población susceptible carecería de inmunidad adaptativa. Esta inevitable variabilidad genética del virus de la influenza impone la constante vigilancia epidemiológica y la oportuna caracterización molecular de las cepas circulantes para efectos de la reformulación de las vacunas. Los virus de la influenza A comúnmente causan brotes infecciosos anuales en humanos y animales, dando origen con alguna frecuencia

a pandemias como consecuencia del surgimiento de nuevas variantes antigénicas. La adaptación de nuevas cepas virales al ambiente hospedero humano, provenientes de reservorios no humanos, implica la adquisición de la capacidad de una eficiente transmisión de humano a humano, donde las vías potenciales de transmisión a través de gotas, del aire o del contacto directo continúan siendo objeto de discusión en términos de sus contribuciones relativas y de la ponderación de los factores ambientales que inciden en la inactivación del virus.

A pesar de que los virus de la influenza tienden a ser específicos de especie, ocasionalmente pueden traspasar las barreras entre las especies, como es el caso relativamente reciente de la cepa aviar altamente patogénica del virus de la influenza A H5N1 que produjo enfermedad severa en humanos, mostrando una tasa de fatalidades de más del 60 por ciento. A este respecto, preocupa que este virus pueda mutar o recomponer ("reassort") su genoma para dar origen a una cepa viral eficientemente transmisible entre humanos con alto potencial pandémico. Bajo una noción preventiva, la vacunación es una herramienta prioritaria, pero requiere de mejoras para una mejor protección de los infantes, los inmuno-suprimidos y los adultos mayores, así como en la rapidez en su producción. Idealmente se apunta hacia el desarrollo de una vacuna universal que permita afrontar los virus de la influenza estacionales y pandémicos. La actual terapia farmacológica contra el virus de la influenza no es totalmente satisfactoria debido al surgimiento de cepas resistentes a los inhibidores del canal iónico M2 y de la NA, por lo que se hace necesario el desarrollo de nuevos inhibidores de funciones virales. Sin embargo, la actual cepa del virus de la influenza A H1N1 de origen porcino (S-OIV) es susceptible a oseltamivir y zanamivir, pero resistente a amantadina y rimantadina.

El nuevo virus pandémico de influenza A H1N1 de origen porcino (S-OIV) contiene una combinación de segmentos genómicos que no había sido descrita previamente en poblaciones humanas o en cerdos. El análisis genético de sus segmentos genómicos sugiere que el virus pudo haber estado circulando en poblaciones de cerdos sin ser detectado. Dada la alta similitud genética de cada uno de los segmentos genómicos entre los diferentes aislamientos virales secuenciados hasta el momento, se sugiere que el virus proviene de otra especie y que paso a los humanos en un sólo evento, o en múltiples eventos con virus genéticamente muy similares. Frente a la actual pandemia se ha recomendado fortalecer globalmente las medidas de vigilancia epidemiológica y tomar todas las previsiones clínicas para garantizar el diagnóstico y el adecuado tratamiento de los pacientes afectados.

Referencias

1. **Eccles R.** Understanding the symptoms of common cold and influenza. *Lancet Infect Dis.* 2005; 5: 718-725.
2. **Poehling KA, Edwards KM, Weinberg GA, Szilagyi P, Staat MA, Iwane MK, et al.** The underrecognized burden of influenza in young children. *N Engl J Med.* 2006; 355: 31-40.
3. **WHO.** Factsheet 211. Influenza Overview 2003. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs211/en/>
4. **Monto AS.** Epidemiology and virology of influenza illness. *Am J Manag Care.* 2000; 6 (Suppl 5): S255-S264.
5. **Brankston G, Gitterman L, Hirji Z, Lemieux C, Gardam M.** Transmission of influenza A in human beings. *Lancet Infect Dis.* 2007; 7: 257-265.
6. **Weber TP, Stilianakis NI.** Inactivation of influenza A viruses in the environment and modes of transmission: a critical review. *Lab Anim.* 2009; 43: 96-101.
7. **Garner JS.** Guideline for isolation precautions in hospitals. The hospital infection control practices advisory committee. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996; 17: 53-80.
8. **Mitsakou C, Helmis C, Housiadas C.** Eulerian modelling of lung deposition with sectional representa-



- tion of aerosol dynamics, *J Aerosol Sci.* 2005; (36): 74-95.
9. **Nicas M, Nazaroff WW, Hubbard A.** Toward understanding the risk of secondary airborne infection: emission of respirable pathogens. *J Occup Environ Hyg.* 2005; 2: 143-54.
 10. **Tellier R.** Review of Aerosol Transmission of Influenza A Virus. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12: 1658-1662.
 11. **Park AW, Glass K.** Dynamic patterns of avian and human influenza in east and Southeast Asia. *Lancet Infect Dis.* 2007; 7: 543-8.
 12. **Nguyen HL, Saito R, Ngiem HK, Nishikawa M, Shobugawa Y, Nguyen DC, et al.** Epidemiology of influenza in Hanoi, Vietnam, from 2001 to 2003. *J Infect.* 2007; 55: 58-63.
 13. **Lowen AC, Mubareka S, Steel J, Palese P.** Influenza virus transmission is dependent on relative humidity and temperature. *PLoS Pathog.* 2007; 3: e151.
 14. **Russell CA, Jones TC, Barr IG, Cox NJ, Garten RJ, Gregory V, et al.** The global circulation of seasonal influenza A (H3N2) viruses. *Science.* 2008; 320: 340-346.
 15. **Buckland FE, Tyrrell DAJ.** Loss of infectivity on drying various viruses. *Nature.* 1962; 195:1063-1064.
 16. **Lytle CD, Sagripanti JL.** Predicted inactivation of viruses of relevance to biodefense by solar radiation. *J Virol.* 79: 14244-14252.
 17. **Walker CM, Ko G.** Effect of Ultraviolet Germicidal Irradiation on Viral Aerosols. *Environ Sci Technol.* 2007; 41: 5460-5465.
 18. **Sagripanti JL, Lytle CD.** Inactivation of influenza virus by solar radiation. *Photochem photobiol.* 2007; 83: 1278-1282.
 19. **Bouvier NM, Palese P.** The biology of influenza viruses. *Vaccine.* 2008; 26 (Suppl 4): D49-53.
 20. **Ghedini E, Sengamalay NA, Shumway M, Zaborisky J, Feldblyum T, Subbu V, et al.** Large-scale sequencing of human influenza reveals the dynamic nature of viral genome evolution. *Nature.* 2005; 437: 1162-1166.
 21. **Lee CW, Saif YM.** Avian influenza virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 2009; 32: 301-310.
 22. **Hatta M, Kawaoka Y.** 2003. The NB protein of influenza B virus is not necessary for virus replication in vitro. *J. Virol.* 3003; 77: 6050-6054.
 23. **Lamb RA, Lai CJ, Choppin PW.** Sequences of mRNAs derived from genome RNA segment 7 of influenza virus: colinear and interrupted mRNAs code for overlapping proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981; 78: 4170-4174.
 24. **Kochs G, Garcia-Sastre A, Martinez-Sobrido L.** Multiple anti-interferon actions of the influenza A virus NS1 protein. *J Virol.* 2007; 81: 7011-21.
 25. **Lamb RA, Choppin PW, Chanock RM, Lai CJ.** Mapping of the two overlapping genes for polypeptides NS1 and NS2 on RNA segment 8 of influenza virus genome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980; 77: 1857-1861.
 26. **Skehel JJ, Wiley DC.** Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu Rev Biochem.* 2000; 69: 531-569.
 27. **Martin K, Helenius A.** Transport of incoming influenza virus nucleocapsids into the nucleus. *J Virol.* 1991; 65: 232-244.
 28. **Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD.** Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101: 4620-4624.
 29. **Beare AS, Webster RG.** Replication of avian influenza viruses in humans. *Arch Virol.* 1991; 119: 37-42.
 30. **Skehel J.** An overview of influenza haemagglutinin and neuraminidase. *Biologicals.* 2009; 37: 177-178.
 31. **Fouchier RAM, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, et al.** Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol.* 2005; 79: 2814-2822.
 32. **Both GW, Sleight MJ, Cox NJ, Kendal AP.** Antigenic drift in influenza virus H3 hemagglutinin from 1968 to 1980: multiple evolutionary pathways and sequential amino acid changes at key antigenic sites. *J Virol.* 1983; 48: 52-60.
 33. **Koelle K, Cobey S, Grenfell B, Pascual M.** Epochal evolution shapes the phylodynamics of inter-pandemic influenza A (H3N2) in humans. *Science.* 2006; 314: 1898-1903.
 34. **Smith DJ, Lapedes AS, de Jong JC, Bestebroer TM, Rimmelzwaan GF, Osterhaus ADME, et al.** Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. *Science.* 2004; 305: 371-376.
 35. **Finkenstädt BF, Morton AM, Rand DA.** Modelling antigenic drift in weekly flu incidence. *Stat Med.* 2005; 3447-3461.
 36. **Boni MF, Gog JR, Andreasen V, Christiansen FB.** Influenza drift and epidemic size: the race between

- generating and escaping immunity. *Theor Popul Biol.* 2004; 65: 179-91.
37. **Webby RJ, Webster RG.** Emergence of influenza A viruses. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2001; 356: 1817-1828.
 38. **Carrat F, Flahault A.** Influenza vaccine: the challenge of antigenic drift. *Vaccine.* 2007; 25: 6852-6862.
 39. **Ferguson NM, Galvani AP, Bush RM.** Ecological and immunological determinants of influenza evolution. *Nature.* 2003; 422: 428-33.
 40. **Treanor J.** Influenza vaccine-outmaneuvering antigenic shift and drift. *N Engl J Med.* 2004; 350: 218-220.
 41. **Cox NJ, Subaru K.** Global epidemiology of influenza: past and present. *Annu Rev Med.* 2000;51: 407-421.
 42. **Potter CW.** A history of influenza. *J Appl Microbiol.* 2001; 91: 572-579.
 43. **Johnson NP, Mueller J.** Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 Spanish influenza pandemic. *Bull Hist Med.* 2002; 76: 105-115.
 44. **Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G, Fanning TG.** Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature.* 2005; 437, 889-893.
 45. **Chen H, Smith GJD, Li KS, Wang J, Fan XH, Rayner JM, et al.** Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: Implications for pandemic control. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103: 2845-2850.
 46. **Vijaykrishna D, Bahl J, Riley S, Duan L, Zhang JX, Chen H, et al.** Evolutionary dynamics and emergence of panzootic H5N1 influenza viruses. *PLoS Pathog.* 2008; 4: e1000161.
 47. **WHO.** Global Influenza Program Surveillance Network. Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11 (10): 1515-1521.
 48. **Blackburne BP, Hay AJ, Goldstein RA.** Changing selective pressure during antigenic changes in human influenza H3. *PLoS Pathog.* 2008; 4: e1000058.
 49. **Chen J, Deng YM.** Influenza virus antigenic variation, host antibody production and new approach to control epidemics. *Virology J.* 2009; 6: 30 pp 3 <http://www.virologyj.com/content/6/1/30>.
 50. **Subbarao EK, Kawaoka Y, Murphy BR.** Rescue of an influenza A virus wild-type PB2 gene and a mutant derivative bearing a site-specific temperature-sensitive and attenuating mutation. *J Virol.* 1993; 67: 7223-7228.
 51. **Naffakh N, Massin P, Escriou N, Crescenzo-Chaigne B, van der Werf S.** Genetic analysis of the compatibility between polymerase proteins from human and avian strains of influenza A viruses. *J. Gen. Virol.* 2000; 81: 1283-1291.
 52. **Kawaoka Y, Krauss S, Webster RG.** Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics. *J Virol.* 1989; 63: 4603-4608.
 53. **Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, Zeng H, Solórzano A, Swayne DE, et al.** Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science.* 2005; 310: 77-80.
 54. **Gambotto A, Barratt-Boyes SM, de Jong MD, Neumann G, Kawaoka Y.** Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Lancet.* 2008; 371: 1464-1475.
 55. **WHO.** Antigenic and genetic characteristics of H5N1 viruses and candidate H5N1 vaccine viruses developed for potential use as human vaccines. 2008. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/H5VaccineVirusUpdate20080214.pdf
 56. **WHO.** Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO. June 2/2009. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2009_06_02/en/index.html.
 57. **Boyce WM, Sandrock C, Kreuder-Johnson C, Kelly T, Cardona C.** Avian influenza viruses in wild birds: A moving target. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2009; 32: 275-286.
 58. **Cardona C, Xing Z, Sandrock C, Davis C.** Avian influenza in birds and mammals. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 2009; 32: 255-273.
 59. **Lupiani B, Reddy SM.** The history of avian influenza. *Comp Immunol, Microbiol Infect Dis.* 2009; 32: 311-223.
 60. **Carrat F, Vergu E, Ferguson NM, Lemaître M, Cauchemez S, Leach S, et al.** Time lines of infection and disease in human influenza: a review of volunteer challenge studies. *Am J Epidemiol.* 2008; 167: 775-785.
 61. **Uiprasertkul M, Kitphati TC, Pathavathana P, Kriwong R, Kongchanagul A, Ungchusak K, et al.** Apoptosis and pathogenesis of avian influenza A (H5N1) virus in humans. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13: 708-712.
 62. **Thanh TT, van Doorn HR, de Jong MD.** Human H5N1 influenza: Current insight into pathogenesis.



- Int J Biochem Cell Biol. 2008; 40: 2671-2674.
63. **Peiris JSM, de Jong MD, Guan Y.** Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20: 243-267.
 64. **Korteweg C, Gu J.** Pathology, molecular biology, and pathogenesis of avian influenza A (H5N1) infection in humans. *Am J Pathol.* 2008; 172: 1155-1170.
 65. **Stevens J, Blixt O, Tumpey TM, Taubenberger JK, Paulson JC, Wilson IA.** Structure and receptor specificity of the hemagglutinin from an H5N1 influenza virus. *Science.* 2006; 312: 404-410.
 66. **Yamada S, Suzuki Y, Suzuki T, Le MQ, Nidom CA, Sakai-Tagawa Y, et al.** Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. *Nature.* 2006; 444: 378-82.
 67. **Abdel-Ghafar AN, Chotpitayasunondh T, Gao Z, Hayden FG, Hien ND, de Jong MD, et al.** Update on avian influenza A (H5N1) virus infection in humans. *New Engl J Med.* 2008; 358: 261-273.
 68. **Shinya K, Ebina M, Yamada S, Ono M, Kasai N, Kawaoka Y.** Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature.* 2006; 440: 435-436.
 69. **Van Riel D, Munster VJ, de Wit E, Rimmelzwaan GF, Fouchier RA, Osterhaus AD, et al.** H5N1 Virus Attachment to Lower Respiratory Tract. *Science.* 2006; 312: 339.
 70. **De Jong MD, Simmons CP, Thanh TT, Hien VM, Smith GJ, Chau TN, et al.** Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia. *Nat Med.* 2006; 12:1203-1207.
 71. **Chan MC, Cheung CY, Chui WH, Tsao SW, Nicholls JM, Chan YO, et al.** Proinflammatory cytokine responses induced by influenza A (H5N1) viruses in primary human alveolar and bronchial epithelial cells. *Respir Res.* 2005; 6: 135-135.
 72. **Baskin CR, Bielefeldt-Ohmann H, Tumpey TM, Sabourin PJ, Long JP, García-Sastre A, et al.** Early and sustained innate immune response defines pathology and death in nonhuman primates infected by highly pathogenic influenza virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106: 3455-3460.
 73. **Ng LF, Barr I, Nguyen T, Noor SM, Tan RSP, Agathe LV, et al.** Specific detection of H5N1 avian influenza A virus in field specimens by a one-step RT-PCR assay. *BMC Infect Dis.* 2006; 6: 40.
 74. **Chen W, He B, Li C, Zhang X, Wu W, Yin X, et al.** Real-time RT-PCR for H5N1 avian influenza A virus detection. *J Med Microbiol.* 2007; 56: 603-607.
 75. **WHO.** CDC protocol of realtime RTPCR for influenza A H1N1. 28 April 2009, revisión 1 (30 April 2009). http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/CDCRealtimeRTPCR_SwineH1Assay-2009_20090430.pdf
 76. **Smith GJD, Fan XH, Wang J, Li KS, Qin K, Zhang JX, et al.** Emergence and predominance of an H5N1 influenza variant in China. *Proc Nat Acad Sci U S A.* 2006; 103: 16936-16941.
 77. **Michael K, Harder TC, Mettenleiter TC, Karger A.** Diagnosis and strain differentiation of avian influenza viruses by restriction fragment mass analysis. *J Virol Methods.* 2009; 158: 63-69.
 78. **WHO.** The Writing Committee of the World Health Organization (WHO) Consultation on Human Influenza A/H5. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med.* 2005; 353: 1374-1385. [Erratum, *N Engl J Med.* 2006; 354: 884.
 79. **Oner AF, Bay A, Arslan S, Akdeniz H, Sahin HA, Cesur Y, et al.** Avian influenza A (H5N1) infection in eastern Turkey in 2006. *N Engl J Med.* 2006; 355: 2179-2185.
 80. **WHO.** Collecting, preserving and shipping specimens for the diagnosis of avian influenza A (H5N1) virus infection: guide for field operations. http://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/CDS_EPR_ARO_2006_1.pdf
 81. **WHO.** Clinical management of human infection with avian influenza A (H5N1) virus. 2007. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/ClinicalManagement07.pdf
 82. **Kandun IN, Wibisono H, Sedyaningsih ER, Yusharmen, Hadisoedarsuno W, Purba W, et al.** Three Indonesian clusters of H5N1 virus infection in 2005. *N Engl J Med.* 2006; 355: 2186-2194.
 83. **Chan KH, Lam SY, Puthavathana P, Nguyen TD, Long HT, Pang CM, et al.** Comparative analytical sensitivities of six rapid influenza A antigen detection test kits for detection of influenza A subtypes H1N1, H3N2 and H5N1. *J Clin Virol.* 2007; 38: 169-71.
 84. **Ho HT, Qiang HL, He F, Meng T, Szyporta M, Prabhu N, et al.** Rapid detection of H5N1 subtype influenza viruses by antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay using H5 and N1 specific monoclonal antibodies. *Clin Vaccine Immunol.* 2009; 16:726-732.
 85. **Higgins RR, Eshaghi A, Burton L, Mazzulli T, Drews SJ.** Differential patterns of amantadine-resis-

- tance in influenza A (H3N2) and (H1N1) isolates in Toronto, Canada. *J Clin Virol.* 2009; 44: 91-93.
86. **Weinstock DM, Zuccotti G.** The evolution of influenza resistance and treatment. *JAMA.* 2009; 301: 1066-1069.
 87. **Dharan NJ, Gubareva LV, Meyer JJ, Okomo-Adhiambo M, McClinton RC, Marshall SA, et al.** Oseltamivir-Resistance Working Group. Infections with oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in the United States. *JAMA.* 2009; 301: 1034-1041.
 88. **Le QM, Kiso M, Someya K, Sakai YT, Nguyen TH, Nguyen KH, et al.** Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature* 2005; 437: 1108-1108. [Erratum, *Nature* 2005; 438:754].
 89. **Moscona A.** Neuraminidase Inhibitors for Influenza. *N Engl J Med.* 2005; 353: 1363-1373.
 90. **Bauer K, Richter M, Wutzler P, Schmidtke M.** Different neuraminidase inhibitor susceptibilities of human H1N1, H1N2, and H3N2 influenza A viruses isolated in Germany from 2001 to 2005/2006. *Antiviral Res.* 2009; 82: 34-41.
 91. **Hurt AC, Selleck P, Komadina N, Shaw R, Brown L, Barr IG.** Susceptibility of highly pathogenic A(H5N1) avian influenza viruses to the neuraminidase inhibitors and adamantanes. *Antiviral Res.* 2007; 73: 228-231.
 92. **Guo L, Garten RJ, Foust AS, Sessions WM, Okomo-Adhiambo M, Gubareva LV, et al.** Rapid identification of oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) viruses with H274Y mutation by RT-PCR/restriction fragment length polymorphism assay. *Antiviral Res.* 2009; 82: 29-33.
 93. **Bolotin S, De Lima C, Choi KW, Lombos E, Burton L, Mazzulli T, et al.** Development of a novel real-time reverse-transcriptase PCR method for the detection of H275Y positive influenza A H1N1 isolates. *J Virol Methods.* 2009; 158: 190-194.
 94. **Rungrotmongkol T, Frecer V, De-Eknamkul W, Hannongbua S, Miertus S.** Design of oseltamivir analogs inhibiting neuraminidase of avian influenza virus H5N1. *Antiviral Res.* 2009; 82: 51-58.
 95. **Brown IH. 2000.** The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Vet Med.* 74:29-46.
 96. **Qi X, Pang B, Lu CP.** Genetic characterization of H1N1 swine influenza A viruses isolated in eastern China. *Virus Genes.* 2009; In press. <http://www.springerlink.com/content/vw8q4jn41103601p/>
 97. **Peiris JS, Guan Y, Markwell D, Ghose P, Webster RG, Shortridge KF.** Cocirculation of avian H9N2 and contemporary «human» H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment? *J Virol.* 2001; 75: 9679-9686.
 98. **Landolt, G., A. Karasin, L. Phillips and C.W. Olsen. 2003.** Comparison of the pathogenesis of two genetically different H3N2 influenza viruses in pigs. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 1936-1941.
 99. **Yu H, Zhou Y, Li G, Zhang G, Liu H, Yan L, et al.** Further evidence for infection of pigs with human-like influenza viruses in China. *Virus Res.* 2009; 140: 85-90.
 100. **Yassine HM, Khatri M, Zhang YJ, Lee CW, Byrum BA, O'Quin J, et al.** Characterization of triple reassortant H1N1 influenza viruses from swine in Ohio. *Vet Microbiol.* 2009; In press.
 101. **Gray GC, McCarthy T, Capuano AW, Setterquist SE, Olsen CW, Alavanja MC.** Swine workers and swine influenza virus infections. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13: 1871-1878.
 102. **Newman AP, Reisdorf E, Beinemann J, Uyeki TM, Balish A, Shu B, et al.** Human case of swine influenza A (H1N1) triple reassortant virus infection, Wisconsin. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14: 1470-1472.
 103. **Karasin AI, Schutten MM, Cooper LA, Smith CB, Subbarao K, Anderson GA, et al.** Genetic characterization of H3N2 influenza viruses isolated from pigs in North America, 1977-1999: evidence for wholly human and reassortant virus genotypes. *Virus Res.* 2000; 68: 71-85.
 104. **Zhou NN, Senne DA, Landgraf JS, Swenson SL, Erickson G, Rossow K, et al.** Genetic reassortment of avian, swine, and human influenza A viruses in American pigs. *J Virol.* 1999; 73: 8851-8856.
 105. **Garten RJ, Davis CT, Russell CA, Shu B, Lindstrom S, Balish A, et al.** Antigenic and Genetic Characteristics of Swine-Origin 2009 A(H1N1) Influenza Viruses Circulating in Humans. *Science.* 22 May 2009. Online, Science DOI: 10.1126/science.1176225.
 106. **Vincent AL, Lager KM, Ma W, Lekcharoensuk P, Gramer MR, Loiacono C, et al.** Evaluation of hemagglutinin subtype 1 swine influenza viruses from the United States. *Vet Microbiol.* 2006; 118: 212-222.
 107. **Lee CS, Kang BK, Kim HK, Park SJ, Park BK, Jung K, Song DS.** Phylogenetic analysis of swine influenza viruses recently isolated in Korea. *Virus Genes.* 2008; 37: 168-76.
 108. **CDC.** Update: Novel Influenza A (H1N1) Virus Infection-Mexico, March-May, 2009. June 5, 2009/58; 585-589 <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwr>



- html/mm5821a2.htm
109. **CDC.** Update: Novel Influenza A (H1N1) Virus Infections - Worldwide, May 6, 2009. May 8, 2009/58; 453-458. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5817a1.htm>.
 110. **Dawood FS, Jain S, Finelli L, Shaw MW, Lindstrom S, Garten RJ, et al.** The members of the writing group. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Eng J Med.* 2009; 360: 2605-2615.
 111. **WHO.** World now at the start of 2009 influenza pandemic. Statement to the press by WHO Director-General Dr Margaret Chan 11 June 2009. http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090611/en/index.html.
 112. **WHO.** Influenza A(H1N1) - update 52. June 22/2009. http://www.who.int/csr/don/2009_06_22/en/index.html.
 113. **Fraser C, Donnelly CA, Cauchemez S, Hanage WP, Kerkhove MD, Hollingsworth TD, et al.** Pandemic Potential of a Strain of Influenza A (H1N1): Early Findings. *Science.* 2009; 324: 1557-1561.
 114. **WHO.** Human infection with new influenza A (H1N1) virus: clinical observations from Mexico and other affected countries, May 2009. *Wkly Epidemiol Rec* 2009; 84: 185-189.
 115. **Olsen CW.** The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Res* 2002; 85: 199-210.
 116. **Vincent AL, Ma W, Lager KM, Janke BH, Richt JA.** Swine influenza viruses: a North American perspective. *Adv Virus Res* 2008; 72: 127-154.
 117. **Shinde V, Bridges CB, Uyeki TM, Shu B, Balish A, Xu X, et al.** Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States, 2005-2009. *N Engl J Med.* 2009; 360: 2616-2625.
 118. **NCBI.** GenBank sequences from 2009 H1N1 influenza outbreak. *Influenza Virus Resource.* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/SwineFlu.html>
 119. **Pappaioanou M.** Highly pathogenic H5N1 avian influenza virus: Cause of the next pandemic?. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2009; 32: 287-300.
 120. **Nigmatulina KR, Larson RC.** Living with influenza: Impacts of government imposed and voluntarily selected interventions. *Eur J Oper Res.* 2009; 195: 613-627.
 121. **Mathews JD, McCaw CT, McVernon J, McBryde ES, McCaw JM.** A biological model for influenza transmission: pandemic planning implications of asymptomatic infection and immunity. *PLoS One.* 2007; 2: e1220.
 122. **Ferguson NM, Cummings DA, Fraser C, Cajka JC, Cooley PC, Burke DS.** Strategies for mitigating an influenza pandemic. *Nature.* 2006; 442: 448-452.
 123. **Call SA, Vollenweider MA, Hornung CA, Simel DL, McKinney WP.** Does this patient have influenza? *JAMA* 2005; 293: 987-97.
 124. **Van der Hoeven AM, Scholing M, Wever PC, Fijnheer R, Hermans M, Schneeberger PM.** Lack of discriminating signs and symptoms in clinical diagnosis of influenza of patients admitted to the hospital. *Infection.* 2007; 35: 65-68.
 125. **Sato M, Hosoya M, Kato K, Suzuki H.** Viral shedding in children with influenza virus infections treated with neuraminidase inhibitors. *Pediatr Infect Dis J.* 2005; 24: 931-932.
 126. **Rothberg MB, Haessler SD, Brown RB.** Complications of viral influenza. *Am J Med.* 2008; 121: 258-64.
 127. **Whimbey E, Champlin RE, Couch RB, Englund JA, Goodrich JM, Raad I, et al.** Community respiratory virus infections among hospitalized adult bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 1996; 22: 778-82.
 128. **Murata Y, Walsh EE, Falsey AR.** Pulmonary complications of inter-pandemic influenza A in hospitalized adults. *J Infect Dis.* 2007; 195: 1029-1037.
 129. **Vélez LA, Rueda Z, Aguilar Y, Rojas E, Segura A, Arroyave M.** Is etiology of community acquired pneumonia (CAP) changing in Latin America? High prevalence of atypical bacteria and respiratory viruses in Medellin, Colombia. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007; Abstract L1151.
 130. **Kallen AJ, Brunkard J, Moore Z, Budge P, Arnold KE, Fosheim G, et al.** Staphylococcus aureus community-acquired pneumonia during the 2006 to 2007 influenza season. *Ann Emerg Med.* 2009; 53: 358-65.
 131. **Rohde G, Wiethege A, Borg I, Kauth M, Bauer TT, Gillissen A, et al.** Respiratory viruses in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease requiring hospitalisation: a case-control study. *Thorax.* 2003; 58: 37-42.
 132. **Beigel JH.** Influenza. *Crit Care Med.* 2008; 36: 2660-2666.
 133. **Hanshaoworakul W, Simmerman JM, Narueponjirakul U, Sanasuttipun W, Shinde V, Kaewchana S, et al.** Severe human influenza infections in Thai-

- land: oseltamivir treatment and risk factors for fatal outcome. *PLoS One*. 2009; 4: e6051.
134. **Herrera D, de la Hoz F, Velandia M.** Severe respiratory disease and its relationship with respiratory viruses in Colombia. *Int J Infect Dis*. 2008; 12: 139-42.
 135. **Gerhard, W.** The role of the antibody response in influenza virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2001; 260: 171-190.
 136. **Oxford JS.** **Influenza A pandemics of the 20th century with special reference to 1918: virology, pathology and epidemiology.** *Rev Med Virol*. 2000; 10: 119-33.
 137. **Clements ML, Betts RF, Tierney EL, Murphy BR.** Serum and nasal wash antibodies associated with resistance to experimental challenge with influenza A wild-type virus. *J Clin Microbiol*. 1986; 24: 157-160.
 138. **Ping J, Li C, Deng G, Jiang Y, Tian G, Zhang S, et al.** Single-amino-acid mutation in the HA alters the recognition of H9N2 influenza virus by a monoclonal antibody. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 20; 371: 168-171.
 139. **Wiley DC, Wilson IA, Skehel JJ.** Structural identification of the antibody-binding sites of Hong Kong influenza haemagglutinin and their involvement in antigenic variation. *Nature*. 1981; 289: 373-378.
 140. **Skehel JJ, Stevens DJ, Daniels RS, Douglas AR, Knossow M, Wilson IA, et al.** A carbohydrate side chain on hemagglutinins of Hong Kong influenza viruses inhibits recognition by a monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81: 1779-1783.
 141. **Wrammert J, Smith K, Miller J, Langley WA, Kokko K, Larsen C, et al.** Rapid cloning of high-affinity human monoclonal antibodies against influenza virus. *Nature*. 2008; 453: 667-671.
 142. **Boni MF.** 2008. Vaccination and antigenic drift in influenza. *Vaccine*. 2008; 26 (Suppl 3): C8-14.
 143. **Boni MF, Gog JR, Andreassen V, Feldman MW.** Epidemic dynamics and antigenic evolution in a single season of influenza A. *Proc Biol Sci*. 2006; 273: 1307-1316.
 144. **Wood JM.** Selection of influenza vaccine strains and developing pandemic vaccines. *Vaccine*. 2002; 20 (Suppl. 5): B40-B44.
 145. **Sugaya N, Nerome K, Ishida M, Matsumoto M, Mitamura K, Nirasawa M.** Efficacy of inactivated vaccine in preventing antigenically drifted influenza type A and well-matched type B. *JAMA*. 1994; 272: 1122-1126.
 146. **Ohmit SE, Victor JC, Rotthoff JR, Teich ER, Truscon RK, Baum LL, et al.** Prevention of antigenically drifted influenza by inactivated and live attenuated vaccines. *N Engl J Med*. 2006; 355: 2513-2522.
 147. **Hope-Simpson RB, Gulobev DB.** A new concept of the epidemic process of influenza A virus. *Epidemiol Infect*. 1987; 99: 5-54.
 148. **Cannell JJ, Zaslloff M, Garland CF, Scragg R, Giovannucci E.** On the epidemiology of influenza. *Virol J*. 2008; 5: 29.
 149. **Hope-Simpson RE.** The transmission of epidemic influenza. Plenum Press, New York. 251 pp. 1992.
 150. **Gregg MB.** The epidemiology of influenza in humans. *Ann N Y Acad Sci*. 1980; 353: 45-53.
 151. **Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, et al.** Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect*. 2006; 134: 1129-1140.
 152. **Hypponen E, Power C.** Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85: 860-868.
 153. **Adams JS, Hewison M.** Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008; 4: 80-90.
 154. **Holick MF.** Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357: 266-281.
 155. **Cannell J, Hollis B, Zaslloff M, Heaney R.** Diagnosis and treatment of vitamin D deficiency. *Expert Opin Pharmacother*. 2008; 9: 107-118.
 156. **Levis S, Gomez A, Jimenez C, Veras L, Ma F, Lai S, et al.** Vitamin D deficiency and seasonal variation in an adult South Florida population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90: 1557-1562.
 157. **Aloia J, Li-Ng M.** Re: epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect*. 2007; 135: 1095-1096.
 158. **Harder J, Glaser, R, Schroder, JM.** Review: Human antimicrobial proteins -effectors of innate immunity. *J Endotoxin Res*. 2007; 13: 317-338.
 159. **Leikina E, Delanoe-Ayari H, Melikov K, Cho MS, Chen A, Waring AJ, et al.** Carbohydrate-binding molecules inhibit viral fusion and entry by crosslinking membrane glycoproteins. *Nature Immunol*. 2005; 6: 995-1001.
 160. **Robinson JK, Rigel DS, Amonette RA.** Trends in sun exposure knowledge, attitudes, and behaviors: 1986 to 1996. *J Am Acad of Dermatol*. 1997; 37: 179-186.