

Microbiología y Parasitología Médicas

Tomo II

A microscopic view of a cell culture, likely a bacterium, showing a central structure surrounded by numerous green, spherical colonies. The background is a light, textured surface.

LLOP • VALDÉS-DAPENA • ZUAZO

Microbiología y Parasitología
Médicas

Microbiología y Parasitología Médicas

Tomo II

**Alina Llop Hernández
Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco
Jorge Luis Zuazo Silva**

Ciudad de La Habana,
2001

Datos CIP - Editorial de Ciencias Médicas

Llop Hernández Alina

Microbiología, Parasitología Médicas/ Alina Llop Hernández ...[y otros]
La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2001
3t., XXIV, 330p.: il

Incluye Bibliografía e Índices
ISBN 959-7132-52-4
ISBN 959-7132-54-0

1. MICROBIOLOGIA/educación 2. PARASITOLOGIA/educación
3. ENFERMEDADES TRANSMISIBLES I. Llop Hernández, Alina II. Valdés-Dapena Vivanco,
Ma. Margarita II. Zuazo Silva, Jorge L.

QW
18

Edición: Lic. Cristina Aguirre Gamboa
Diseño: DI José Manuel Oubiña González
Emplante: Ana Ibis Gómez, Lisett Torres, Xiomara Segura e Isabel Noa
Realización: DI José Manuel Oubiña González

© Alina Llop Hernández,
Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco,
Jorge L. Zuazo Silva y otros, 2001.

© Sobre la presente edición:
Editorial Ciencias Médicas, 2001

Editorial Ciencias Médicas
Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas
Calle E No. 452 e/ 19 y 21, El Vedado, Ciudad de La Habana,
10400, Cuba.
Correo electrónico: ecimed@cnicm.sld.cu
Fax: 333063
Télex: 0511 202
Teléfonos: 32-5338, 32-4519 y 32-4579

Autores principales

Llop Hernández, Alina M.D.

Especialista 2do. Grado en Microbiología y Administración de Salud.

Profesora Titular. Consultante.

Investigadora Titular. Académica de Mérito.

Directora del Laboratorio Nacional de Referencia y vicedirectora del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”.

Valdés-Dapena Vivanco, Ma. Margarita M.D. Ph.D.

Especialista 2do. Grado en Microbiología.

Profesora Titular. Consultante.

Jefe de Servicio de Microbiología del Hospital Pediátrico Docente “Juan M. Márquez”.

Zuazo Silva, Jorge L. M.D.

Especialista 2do. Grado en Microbiología.

Profesor Auxiliar. Investigador Titular.

Consultante del Departamento de Microbiología del Hospital Pediátrico Docente de Centro Habana.

Autores

Acosta Herrera Betsy M.D.
Especialista de I Grado en Microbiología.

Álvarez Vera, Mayling M. Sc.
Aspirante a Investigador

Bello Corredor, Marite M. Sc.
Investigador auxiliar

Cancio Fernández, Reinel M.D. M.Sc.
Especialista de 1er. Grado en Microbiología

Goynechea Hernández, Ángel M.D.
Especialista de 2do. Grado en Microbiología
Profesor Titular

Guzmán Tirado, María Guadalupe M.D. Ph.D.
Especialista de 2do. Grado en Microbiología
Profesora Titular. Investigadora Titular

Jímenez López, Patricia

Kourí Flores, Gustavo M.D. Ph. D
Especialista de 2do. Grado en Microbiología
Profesor Titular. Investigador Titular

Mas Lago, Pedro J. M.D.
Especialista de 2do. Grado en Microbiología
Profesor Titular. Investigador Titular

Morier Díaz, Luis
Licenciado en Microbiología.
Investigador Auxiliar

Muné Jiménez, Maira M.Sc.

Licenciado en Bioquímica

Investigador Auxiliar

Oropesa Fernández, Suset M.D.

Especialista de 2do. Grado en Microbiología

Instructor Graduado. Investigador Auxiliar

Pelegrino de la Cotera, José Luis M.Sc.

Licenciado en Ciencias Biológicas

Investigador Agregado

Pérez Díaz, Ana Beatriz M.D.

Especialista de 1er. Grado en Inmunología

Pumariera Menéndez, Tania

Laboratorio de Virología

Pupo Antúnez, Maritza M. Sc.

Licenciada en Bioquímica

Investigadora Auxiliar

Nesik Aguirre, Sonia M.D. M. Sc.

Especialista de 2do. Grado en Microbiología

Investigadora Auxiliar

Ribas Antúnez, María de los Ángeles M.D.

Especialista de 2do. Grado en Microbiología

Investigadora Auxiliar

Rodríguez Lay, Licel de los A. M.D.

Especialista de 2do. Grado en Microbiología

Investigadora Auxiliar

Rodríguez Roche, Rosmary M. Sc.

Licenciada en Radioquímica

Investigadora Agregada

Sierra Vázquez, Beatriz M.D. M. Sc.

Especialista en 1er. Grado en Inmunología

Soto Brito, Yudira M.Sc.

Licenciado en Microbiología

Aspirante a Investigadora

Suárez Morán, Carlos M. M. Sc.

Licenciado en Microbiología

Aspirante a Investigador

Torres Rojas, Gisset M.D. M. Sc.

Especialista de 1er. Grado en Microbiología

Investigadora Agregada

Valdés Ramírez, Odalys M. Sc.

Licenciada en Bioquímica

Investigadora Agregada

Valdivia Romero, Ángel

Prólogo

Las enfermedades transmisibles constituyen hoy las principales causas de muerte entre niños y adultos jóvenes, particularmente en el Tercer Mundo. Ellas causan más de 13 000 000 de muertes, y más de la mitad de estas ocurre en los países subdesarrollados.

Sólo en la próxima hora, 1 500 personas morirán de alguna enfermedad transmisibile; la mitad de ellos, niños menores de 5 años.

Según la OMS, las enfermedades transmisibles representan 45 % del total de muertes en los países pobres de Asia y África, 63 % de las muertes de los niños de 0 a 4 años en el mundo y 48 % de las muertes catalogadas como prematuras.

Las principales enfermedades transmisibles que producen esta carga de dolor y muerte son: las infecciones respiratorias agudas, el SIDA, las enfermedades diarreicas agudas, la tuberculosis, la malaria y el sarampión.

Este sombrío panorama que afecta al mundo, donde la mayoría de las enfermedades infecciosas pueden ser prevenidas con estrategias conocidas, es, sin embargo, el que se nos presenta al iniciar la humanidad el Tercer Milenio.

La pobreza, el hambre, la miseria y el desamparo social determinan inequidades que caracterizan al mundo de hoy, y afectan uno de los principales derechos del hombre: el derecho a la salud.

Según la OMS, “los países más pobres están pagando un alto precio por la complacencia y negligencia del mundo desarrollado”. En el mundo actual, 20 % de la población mundial vive en absoluta pobreza (menos de 1 USD por día) y la mitad de la población mundial subsiste con 2 USD por día.

En Cuba, país pobre, el cual sufre el más inhumano bloqueo que se ha aplicado a un pueblo, la situación de las enfermedades transmisibles es completamente distinta y esto se debe a la prioridad que tiene la salud para nuestro Partido y Gobierno, así como para nuestro sistema socialista.

Nuestros programas de control se caracterizan por:

Absoluta equidad para toda la población.

Protección a toda la población urbana y rural.

Fuerte desarrollo de la atención primaria.

Protección mediante vacunación contra trece enfermedades transmisibles.

Poseer un sistema de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmisibles con base de laboratorio muy bien estructurado.

Por estas razones, el Sistema de Salud de Cuba ocupa el lugar 39 en su evaluación global, entre 190 países, según aparece en El Reporte Mundial de la Salud de la OMS del año 2000.

Los indicadores de Salud de Cuba se corresponden con los de un país desarrollado, donde las llamadas enfermedades tropicales no existen y la mayoría de las transmisibles no son problemas de salud. Nuestro reto actual lo constituyen las infecciones respiratorias agudas y mantener a raya la resistencia de los microorganismos a los antibióticos.

A pesar de este panorama favorable, la microbiología y la parasitología médicas tienen que continuar su desarrollo acelerado, y es aquí donde el magnífico libro que se presenta debe desempeñar un papel protagónico.

Con anterioridad sólo existía la formidable obra de *Parasitología* escrita por los profesores Kourí, Basnuevo y Sotolongo. Hoy, esta obra comprende todas las ramas de la microbiología y la parasitología médicas, incluyendo un enfoque clínico-epidemiológico.

Los Planes Integrales de Salud que Cuba desarrolla en países hermanos del Tercer Mundo y la existencia de la Escuela de Medicina Latinoamericana, hacen cobrar una mayor dimensión y vigencia a este libro, ya que, como se mencionó antes, son precisamente las enfermedades transmisibles las que están cobrando hoy un alto tributo en vidas a la humanidad, y sólo mediante un buen conocimiento de estas especialidades, tendremos mejores armas para enfrentarlas en los países endémicos y evitar su introducción en Cuba, o controlarlas en caso de que aparezcan.

Dr.C. Prof. Gustavo Kourí Flores
Director Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", Cuba
Presidente de la Sociedad Cubana de Microbiología

Prefacio

La posibilidad de contar con un texto único, actualizado y cubano de *Microbiología y parasitología médicas*, que cumpla con los objetivos de servir de texto al pregrado de las carreras relacionadas con la medicina, de apoyo al posgrado y como libro de consulta para el personal que trabaja en la Salud, ha sido una necesidad sentida desde hace muchos años, y es hoy una realidad.

Se presenta por primera vez en Cuba, una obra de *Microbiología y parasitología médicas* con la característica de haber sido escrita por un colectivo de 80 autores, de diferentes perfiles dentro de la especialidad, que ha reunido a tres generaciones de profesores dedicados a la docencia, asistencia e investigación y –junto a experimentados trabajadores de la salud pública cubana, ha brindado espacio a brillantes jóvenes los cuales aseguran que esta primera edición tendrá una continuidad actualizada– que recoja, además, la riqueza acumulada por el Sistema de Salud de Cuba.

Tratar de integrar una obra en la que concurren tantos autores, no ha resultado fácil sólo por ese simple hecho. Pero... además, cuando han coincidido diferentes objetivos, aún resulta más compleja. Unir voluntades, esfuerzos y escribir con recursos limitados ha sido una pujante labor, como era de esperar.

Esta obra modesta, pero llena de amor, servirá para dar a conocer, además de todo lo de valor científico que ella en sí misma encierra, cómo una especialidad médica que sirve de instrumento imprescindible en el diagnóstico, la vigilancia y el control de las enfermedades infecciosas, puede lograr desarrollo, aun tratándose de un país pobre, porque... la inequidad en salud no existe donde la salud pública es un derecho de todos, donde ha habido éxitos innegables y donde existe la voluntad de que así sea. Los logros de la medicina cubana hoy se extienden por otras tierras, con el calor humano que la caracteriza, la modestia y la ética en la que han sido educados los médicos de nuestra sociedad. A esos médicos que hoy prestan el concurso de sus modestos esfuerzos lejos de Cuba, va dedicada esta obra.

Estamos seguros de que nuestros maestros y nuestros alumnos sabrán apreciar el esfuerzo realizado.

Prof. Alina Llop Hernández

Prof. Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco

Prof. Jorge L. Zuazo Silva

Índice

Sección V. Virus

Capítulo 54. **Propiedades generales de los virus 3**

ÁNGEL GOYENECHEA HERNÁNDEZ

- Introducción 3
- Algunas definiciones útiles en virología 3
- Estudio de virus que contienen ADN 7
- Estudio de virus que contienen ARN 8
- Estructura y tamaño de los virus 10
- Composición química de los virus 14
- Cultivo y análisis de los virus/16
- Cuantificación de los virus 18
- Purificación e identificación de los virus 19
- Seguridad en el laboratorio 19
- Reacciones a los agentes físicos y químicos 20
- Replicación de los virus 21
- Genética viral 22
- Historia natural (ecología) y modo de transmisión de los virus 23
- Resumen 24
- Bibliografía 26

Capítulo 55. **Patogenia y control de las enfermedades virales 27**

PATRICIA JIMÉNEZ LÓPEZ

- Principios y conceptos básicos en las infecciones virales 27
- Patogénesis de las enfermedades virales 28
- Fases de la infección viral 28
- Control de las enfermedades virales 34
- Resumen 41
- Bibliografía 41

Capítulo 56. **Inmunología de las virosis humanas 43**

ANA BEATRÍZ PÉREZ DÍAZ Y BEATRÍZ SIERRA VÁZQUEZ

- Introducción 43

Respuesta inmunitaria innata o inespecífica a virus 43
Respuesta inmunitaria específica a virus 46
Evasión de los virus a la respuesta inmunitaria 50
Inmunopatología de infecciones virales 50
Resumen 51
Bibliografía 52

Capítulo 57. Diagnóstico de las enfermedades virales 53

PATRICIA JIMÉNEZ LÓPEZ

Introducción 53
Aislamiento viral e identificación 56
Serología 57
Biología molecular 57
Diagnóstico virológico rápido 58
Resumen 58
Bibliografía 58

Capítulo 58. Parvovirus 59

MAYLING ÁLVAREZ VERA Y LUIS MOREIRA DÍAZ

Introducción 59
Propiedades fisicoquímicas más importantes de la familia *Parvoviridae* 59
Epidemiología 60
Patogénesis 60
Cuadro clínico 61
Resumen 63
Bibliografía 63

Capítulo 59. Adenovirus 65

ÁNGEL GOYENECHEA HERNÁNDEZ, REYNEL CANCIO FERNÁNDEZ Y
TANIA PUMARIEGA MENÉNDEZ

Introducción 65
Estructura y composición 65
Estructura y función de las proteínas virales 66
Clasificación 67
Replicación viral 68
Patogenia y patología 69
Patogenicidad en animales 69
Manifestaciones clínicas 69
Inmunidad 72
Diagnóstico virológico 72
Epidemiología 74
Tratamiento, prevención y control 75
Adenovirus en Cuba 76
Resumen 77
Bibliografía 77

Capítulo 60. Papovavirus 79

YUDIRA SOTO BRITO

Familia *Papovaviridae* 79
Resumen 107
Bibliografía 108

Capítulo 61. Herpesvirus 109

BELSY ACOSTA HERRERA

Introducción 109
Características generales 109
Clasificación 109
Replicación 111
Infecciones por el VIRUS herpes simple en humanos 112
Propiedades de los virus 112
Patogénesis de la infección por VHS 112
Datos clínicos 113

Inmunidad 116
Diagnóstico de laboratorio 116
Epidemiología 118
Prevención y control 119
Prevención de la infección genital y neonatal 119
Tratamiento 120
Virus varicela zoster 120
Citomegalovirus 124
Virus *Epstein-Barr* 131
Propiedades del virus 131
Herpes 6 136
Herpes 7 139
Herpes 8 140
Herpesvirus B 141
Resumen 141
Bibliografía 141

Capítulo 62. Poxvirus 143

CARLOS MANUEL SUÁREZ MORÁN

Clasificación 143
Estructura y composición 143
Replicación de los poxvirus 145
Interacciones virus-célula 148
Vectores de expresión 149
Infecciones humanas por poxvirus 149
Resumen 161
Bibliografía 162

Capítulo 63. Hepatitis 163

LICEL DE LOS ÁNGELES RODRÍGUEZ LAY Y PEDRO J. MAS LAGO

Introducción 163
Agente etiológico. Propiedades físicas, químicas y biológicas. Replicación viral 163
Infecciones en humanos por los virus de las hepatitis 170
Diagnóstico de laboratorio 174
Epidemiología 178
Tratamiento 182
Otros virus causantes de hepatitis 183
Resumen 185
Bibliografía 185

Capítulo 64. Picornavirus 187

MARITÉ BELLO CORREDOR Y PEDRO J. MAS LAGO

Introducción 187
Propiedades importantes de los *picornavirus* 187
Estructura y composición del virión 188
Genoma: estructura, organización y funciones 188
Replicación de los *picornavirus* 189
Género *Enterovirus* 190
Género *Rinovirus* 208
Resumen 210
Bibliografía 211

Capítulo 65. Reovirus y rotavirus 213

GISSET TORRES ROJAS

Introducción 213
Rotavirus 213
Otros agentes virales causantes de gastroenteritis 216
Resumen 217
Bibliografía 217

- Capítulo 66. *Alfavirus* 219**
JOSÉ LUIS PELEGRINO
Introducción 219
Morfología 220
Patogenia y cuadro clínico 221
Diagnóstico de los *Alfavirus* 224
Control 224
Vacunas 225
Resumen 225
Bibliografía 225
- Capítulo 67. *Ortomixovirus* 227**
SUSET OROPESA FERNÁNDEZ
Introducción 227
Clasificación y nomenclatura 228
Estructura y composición 228
Variabilidad antigénica del virus de la gripe 232
Ciclo infeccioso 234
Patogenia y patología 236
Patología 237
Inmunidad 237
Diagnóstico 238
Epidemiología 240
Prevención y control 241
Resumen 244
Bibliografías 245
- Capítulo 68. *Paramixovirus* y *rubéola* 247**
MARÍA A. RIBAS ANTÚNEZ, ODALYS VALDÉS RAMÍREZ Y ÁNGEL
VALDIVIA ROMERO
Introducción 247
Estructura y composición 247
Clasificación 248
Estructura y función de las proteínas virales 248
Replicación 249
Transcripción, traducción y replicación del ARN 250
Maduración 250
Virus parainfluenza (VPI) 250
Virus sincitial Respiratorio humano (VSRH) 252
Parotiditis 258
Sarampión 261
Rubéola (sarampión alemán) 266
Resumen 270
Bibliografía 270
- Capítulo 69. *Rabdovirus* 273**
GISSET TORRES ROJAS Y MARÍA DE LOS A. RIBAS ANTÚNEZ
Introducción 273
Estructura del virus 273
Clasificación 273
Propiedades físicas y químicas 274
Susceptibilidad de los animales 274
Propiedades antigénicas 274
Patogenia y patología 274
Cuadro clínico 275
Diagnóstico 275
Inmunidad y prevención 276
Epidemiología 277
Tratamiento 278
Resumen 278
Bibliografía 278

Capítulo 70. Retrovirus 279

SONIA RESIK AGUIRRE

Introducción 279
Clasificación 279
Estructura 280
Variabilidad genética 281
Tropismo viral 281
Características fisicoquímicas 282
Ciclo de replicación 282
Historia natural de la infección 283
Inmunopatogenia 284
Respuesta inmune 284
Epidemiología 285
Epidemiología molecular 285
Diagnóstico microbiológico de la infección por VIH 286
Vacunas 288
Terapéutica 289
Resumen 289
Bibliografía 290

Capítulo 71.

Arenavirus 293

MAYRA MUNÉ JIMÉNEZ Y ROSMARI RODRÍGUEZ ROCHE

Introducción 293
Características de los virus 295
Análisis del virus 297
Resumen 303
Bibliografía 303

Capítulo 72.

Filovirus 305

MARITZA PUPO ANTÚNEZ

Introducción 305
Características del virus 305
Resumen 308
Bibliografía 308

Capítulo 73.

Flavivirus 309

GUSTAVO KOURÍ FLORES Y MARÍA G. GUZMÁN TIRADO

Introducción 309
Flavivirus 310
Características de los virus 310
Flavivirus asociados con cuadros meningoencefálicos 313
Flavivirus que causan síndrome febril, artralgia y erupción 314
Resumen 319
Bibliografía 320

Capítulo 74.

Coronavirus 321

SUSET OROPESA FERNÁNDEZ

Introducción 321
Características generales. Estructura del virión 321
Clasificación 322
Ciclo replicativo de los *Coronavirus* 322
Infecciones humanas producidas por *Coronavirus* 323
Resumen 325
Bibliografía 325

Capítulo 75.

Bunyavirus 327

MARÍA G. GUZMÁN TIRADO Y GUSTAVO KOURÍ FLORES

Introducción 327
Características del agente 327
Resumen 330
Bibliografía 330

SECCIÓN V

Virus

Capítulo 54

Propiedades generales de los virus

Ángel Goyenechea Hernández

INTRODUCCIÓN

Difícil fue llegar a un concepto de virus, ya que la unidad motivo de nuestro interés se presenta en dos formas completamente distintas, según sea considerado su estado libre o intracelular; no obstante, los virus son partículas formadas por ácido nucleico y proteínas, considerados por algunos como la forma más pequeña de vida.

Concepto de virus. Los virus son los agentes infecciosos más pequeños (varían de 20 a 300 nm de diámetro aproximadamente) y sólo contienen un tipo de ácido nucleico (ARN o ADN) como genoma. El ácido nucleico está recubierto y protegido por la cápside, estructura formada por capsómeros y algunos presentan una envoltura de lipoproteínas. La unidad infecciosa íntegra se denomina *virión*. Los virus son partículas inertes que adquieren vitalidad y se reproducen cuando entran a una célula de un huésped susceptible. El ácido nucleico viral contiene la información necesaria para programar a la célula infectada del huésped a sintetizar las macromoléculas específicas del virus necesarias para producir la progenie viral. Durante el ciclo replicativo se produce un gran número de copias del ácido nucleico viral y de las proteínas específicas con diferentes funciones. La infección por el virus puede tener efecto escaso o nulo sobre la célula del huésped o provocar daño o muerte celular (Fig. 54.1).

ALGUNAS DEFINICIONES ÚTILES EN VIROLOGÍA

Cápside. Cubierta proteica o envoltura que encierra el genoma de ácido nucleico. Las cápsides vacías pueden ser subproductos del ciclo replicativo de los virus con simetría icosaédrica.

Capsómeros. Unidades morfológicas observadas al microscopio electrónico sobre la superficie de las partículas virales icosaédricas. Los capsómeros representan grupos de polipéptidos, pero las unidades morfológicas no corresponden necesariamente a las unida-

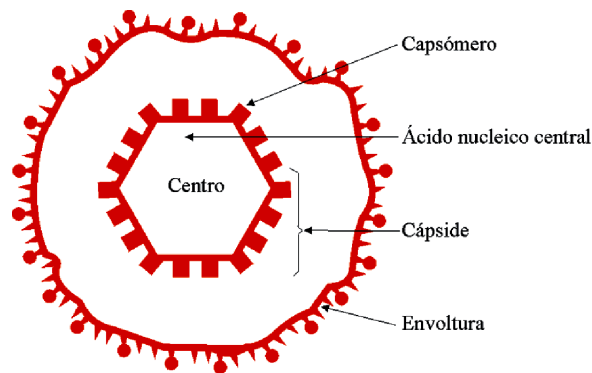


Fig. 54.1. Esquema de la estructura de un virus.

des definidas químicamente.

Nucleocápside. Complejo proteína-ácido nucleico que representan la forma de presentarse el genoma viral. Por lo general, este término se utiliza cuando la nucleocápside es una subestructura de una partícula viral más compleja.

Envoltura. Membrana que contiene lípidos y rodea algunas partículas virales. Se forma durante la maduración viral mediante un proceso de gemación a través de una membrana celular. Las glucoproteínas codificadas por el virus están expuestas sobre la superficie de la envoltura. Estas prolongaciones se denominan peplómeros.

Virión. Partícula viral completa. En algunos casos (adenovirus, parvovirus), el virión es idéntico con la nucleocápside; en viriones más complejos (*flavivirus*, *paramixovirus*), incluye la nucleocápside y la envoltura que la rodea. Esta estructura, el virión, sirve para transferir el ácido nucleico de una célula a otra.

Virus defectuoso. Partícula viral funcionalmente deficiente en algún aspecto de la replicación. El virus defectuoso puede interferir con la replicación del virus normal.

Seudoviriones. Durante la replicación viral a veces la cápside envuelve al ácido nucleico del huésped en lugar de envolver al ácido nucleico viral. Tales partículas se semejan a partículas virales ordinarias cuando se observan con el microscopio electrónico, pero no se replican. Los pseudoviriones contienen ácido nucleico «erróneo».

Subunidades. Cadena de polipéptidos viral con un solo plegamiento.

Unidades ensambladas. Conjunto de subunidades o unidades estructurales, habitualmente simétricas, que constituyen un intermediario importante en la formación de una estructura de mayor extensión.

Unidades estructurales. Proteínas de los elementos constitutivos básicos de la cubierta. Habitualmente forman un conjunto de más de una subunidad proteínica no idéntica. Las unidades estructurales también se conocen como protómeros.

Estructura primaria, secundaria y terciaria del ácido nucleico. La estructura primaria se refiere a la secuencia de bases en la cadena del ácido nucleico. La estructura secundaria se refiere al arreglo espacial de la cadena completa del ácido nucleico, ya sea que tenga conformación circular o linear, de tira aislada o doble tira. La estructura terciaria se refiere a otros elementos de fino detalle espacial en la hélice, por ejemplo la presencia de superenrollado, puntos de rupturas, regiones de separación de las tiras.

Transcripción. Mecanismo por medio del cual la información específica cifrada en una cadena de ácido nucleico se transmite al ARN mensajero.

Traducción. Mecanismo por medio del cual una sucesión seriada de bases particulares en un ácido nucleico mensajero da por resultado la producción de una sucesión específica de aminoácidos en una proteína.

Origen evolutivo de los virus. El origen de los virus es aun una incógnita, la constitución extremadamente simple de las partículas virales en todos sus aspectos contrasta con la compleja fisiología de su parasitismo; así surge la gran interrogación: ¿Qué ha sido primero, el virus o su célula hospedero?. Es posible que distintos tipos de virus tengan orígenes diferentes.

De acuerdo con el momento del desarrollo de los conocimientos se han planteado algunas teorías:

1. Los virus antecedieron y fueron precursores de sus hospederos, atribuyéndoseles propiedades de reproducción que han perdido simultáneamente con el perfeccionamiento de su parasitismo.
2. Evolución retrógrada de parásitos más organizados que iban perdiendo facultades a medida que su dependencia del hospedero era mayor.
3. Evolución convergente, según la cual el parásito y el hospedero han aparecido al mismo tiempo, evolucionando independientemente hasta coincidir en el punto representado por el complejo virus-células.

Clasificación de los virus. Los primeros esfuerzos realizados con objeto de clasificar los virus constituían iniciativas aisladas de distintos científicos, así surgieron clasificaciones basadas en criterios disímiles, quizás las más antiguas de ellas sean la que los agrupaban según el hospedero parasitado, hablándose entonces de virus de plantas, virus de insectos, virus de aves, virus de bacterias, etc. Con posterioridad aparece otra basada en el tropismo de estos agentes a órganos o tejidos, denominándolos: virus dermatópicos, virus

neurotrópicos, virus neumotrópicos, etc. Una clasificación que ha sido muy útil sobre todo en el aspecto clínico, es la que los agrupa según la sintomatología producida en los humanos por la infección de estos microorganismos.

Ella comprende dos grupos principales: A) Enfermedades generalizadas, y B) enfermedades que afectan primariamente a órganos específicos. Al primer grupo pertenecen aquellos procesos en que la diseminación se hace por vía hematógena, sin que afecte ningún órgano en particular. Entre ellos se pueden citar: sarampión, varicela, rubéola, viruela, dengue, fiebre amarilla, etc. En el grupo B se incluyen aquellos que afectan fundamentalmente un órgano y en los que el virus puede llegar a éste por distintas vías. Así pueden distinguirse enfermedades del sistema nervioso (rabia, poliomielitis, etc.); enfermedades del tracto respiratorio (influenza, infección por virus sincitial respiratorio, etc.); enfermedades localizadas en la piel y mucosas (herpes zoster, molusco contagioso, etc.); enfermedades de los ojos, enfermedades del hígado, enfermedades de los ganglios linfáticos, enfermedades de las glándulas salivales. Como se ve esta es una clasificación clínica que no abarca los virus que producen patología extrahumana, al igual que aquellos no relacionados con procesos patológicos, sin embargo, no es satisfactoria para el biólogo, porque un mismo virus puede aparecer en varios grupos si causa más de una enfermedad, según el órgano atacado, y virus sin nada en común pueden producir enfermedades similares.

Actualmente las siguientes propiedades pueden emplearse como base para la clasificación de virus, al tener en cuenta que la cantidad de información disponible en cada categoría no es uniforme para todos los virus; la manera de caracterizar los virus cambia con rapidez; en la actualidad es frecuente secuenciar el genoma como paso inicial para identificar un virus, a continuación se compara con una base de datos para ahorrar la necesidad de obtener datos más característicos (densidad de flotación del virión, etc.). Los datos de la secuencia genómica son criterios taxonómicos avanzados (por ejemplo, orden de los genes) y a veces constituyen la base para conformar una nueva familia de virus.

Las bases de la clasificación son:

1. Morfología del virión, que incluye tamaño, forma, tipo de ácido nucleico, presencia o ausencia de peplómeros, y presencia o ausencia de membranas.
2. Propiedades fisicoquímicas del virión como masa molecular, densidad de flotación, estabilidad de pH y a la temperatura, y susceptibilidad a los agentes químicos y físicos, sobre todo al éter y a los detergentes.
3. Propiedades del genoma del virus, que incluyen tipo de ácido nucleico (ADN o ARN), tamaño del genoma en kilobase (kb) o kilopares de base (kpb), tipo de cadena (sencilla o doble), lineal o circular, sentido (positivo, negativo, ambos sentidos), segmentos (número, tamaño), secuencia de nucleótidos, contenido G + C, presencia de características especiales (elementos repetitivos, isomerización, extremo 5'-terminal, proteína 5'-terminal unida mediante unión covalente, segmento 3'-terminal polio [A]).
4. Propiedades de las proteínas del virus, como número, tamaño y actividad funcionales de las proteínas estructurales y no estructurales, secuencias de aminoácidos, modificaciones (glucosilación, fosforilación, miristilación) y actividades funcionales (transcriptasa, transcriptasa inversa, neuroaminidasa, actividad de fusión).
5. Organización y replicación del genoma, que incluye orden de los genes, número y posición de los marcos de lecturas abiertos, estrategia de replicación (patrones de transcripción, traducción), y sitios celulares (acumulación de proteínas, ensamblaje del virión, liberación del embrión).
6. Propiedades antigénicas.
7. Propiedades biológicas, que incluye variedad de huéspedes naturales, modo de transmisión, interrelación con el vector, patogenicidad, tropismo tisular y patología.

Sistema universal de taxonomía de los virus. Se ha establecido un sistema en el cual se separan en grupos de mayor tamaño -llamados familias- con base en la morfología del virión, estructura del genoma y estrategias de multiplicación. Los nombres de las familias de virus llevan el sufijo *-viridae*.

En cada familia las subdivisiones (denominadas géneros) habitualmente se basan en diferencias fisicoquímicas o serológicas. Los criterios utilizados para definir el género varían de una familia a otra. Los nombres de los géneros llevan el sufijo *-virus-*. En cuatro familias

(*Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Parvoviridae*, *Paramixoviridae*) se definen otros grupos denominados subfamilias, las cuales reflejan la complejidad de las interrelaciones entre los virus de la familia. Los órdenes de los virus pueden usarse para agrupar familias de virus que comparten características comunes. En la actualidad solo se han definido tres órdenes de virus: el de los *Mononegavirales*, que incluyen las familias *Filoviridae*, *Paramixoviridae*, *Rhabdoviridae* y *Bornaviridae*; *Nidovirales* que incluyen *Coronaviridae* y *Arteriviridae*; y *Caudovirales* que incluyen *Myoviridae*, *Siphoviridae* y *Podoviridae*.

El Comité Internacional de Taxonomía de los Virus, había organizado más de 4 000 virus de animales y plantas en 71 familias, 11 subfamilias, 233 géneros y cientos de virus a los cuales todavía no se les asigna grupo alguno. Actualmente 24 familias contienen virus que infectan al ser humano y a los animales.

En el Cuadro 54.1 se presentan las propiedades de las principales familias de virus importantes en la patología humana.

ESTUDIO DE VIRUS QUE CONTIENEN ADN

Cuadro 54.1. Propiedades de las principales familias de virus importantes en la patología humana

Simetría de la cápside	Virión envuelto desnudo	Susceptibilidad al éter	A D N		
			Tamaño de la partícula viral(nm)(1)	Tipofísico del ácido nucleico(2)	Familia de virus
Icosaédrica	Desnudo	Resistente	18 - 26	cu	<i>Parvoviridae</i>
			45 - 55	cd circular	<i>Papovaviridae</i>
			80 - 110	cd	<i>Adenoviridae</i>
	Envuelto	Susceptible	40 - 48	cd circular(3)	<i>Hepadnaviridae</i>
			150 - 200	cd	<i>Herpesviridae</i>
Compleja	Cubierta compleja	Resistente(4)	230x400	cd	<i>Poxviridae</i>
A R N					
Icosaédrica	Desnudo	Resistente	28 - 30	cu	<i>Picornaviridae</i>
			28 - 30	cu	<i>Astroviridae</i>
			27 - 38	cu	<i>Caliciviridae</i>
			60 - 80	cd segmentado	<i>Reoviridae</i>
	Envuelto	Susceptible	50 - 70	cu	<i>Togaviridae</i>
Desconocida o compleja	Envuelto	Susceptible	45 - 60	cu	<i>Flaviviridae</i>
			50 - 300	cu segmentado	<i>Arenaviridae</i>
			80 - 220	cu	<i>Coronaviridae</i>
			80 - 100	cu diploide	<i>Retroviridae</i>
Helicoidal	Envuelto	Susceptible	80 - 120	cu segmentado	<i>Bunyaviridae</i>
			80 - 120	cu segmentado	<i>Orthomyxoviridae</i>
			150 - 300	cu	<i>Paramyxoviridae</i>
			75x180	cu	<i>Rhabdoviridae</i>
			80x1000(5)	cu	<i>Filoviridae</i>

(1) Diámetro o diámetro por longitud.

(2) cu = cadena única; cd = cadena doble.

(3) La cadena en sentido negativo posee una longitud constante de 3,2 kb; la otra varía en longitud, dejando una amplia brecha en la cadena única.

(4) El género *Orthopoxvirus*, que incluye los poxvirus mejor estudiados (por ejemplo, vacuna) es resistente al éter, algunos poxvirus pertenecientes a otros géneros son susceptibles al éter.

(5) Las formas filamentosas varían mucho en longitud.

Parvovirus. Virus cuya partícula tiene un tamaño de 18 a 26 nm y presentan simetría cúbica, con 32 capsómeros, pero carecen de envoltura. El genoma es lineal, con una sola cadena de ADN y 5,6 kb de tamaño. La replicación sólo tiene lugar en las células en división activa, y el ensamblado de la cápside, en el núcleo de la célula infectada.

Muchos parvovirus se reproducen de manera autónoma, pero los virus satélites adenovinculados son defectivos y requieren de un adenovirus o herpesvirus como "auxiliar". El parvovirus humano B19 se reproduce en las células eritroides inmaduras y produce varias consecuencias adversas, que incluyen crisis aplásticas, la quinta enfermedad y muerte fetal.

Papovavirus. Virus pequeño (45 a 55 nm) carente de envoltura, termoestable, resistente al éter y que muestran simetría cúbica con 72 capsómeros. El genoma es circular con ADN de cadena doble, de 5 kpb (poliomavirus) u 8 kpb (papillomavirus) de tamaño. Estos agentes presentan un ciclo de crecimiento lento, estimulan la síntesis del ADN celular y se reproducen en el núcleo. Los papovavirus humanos conocidos son el papillomavirus (verrugas, más de 70 tipos) y los agentes aislados del tejido cerebral de pacientes con leucoencefalopatías multifocal progresiva (virus JC) o de orina de receptores de trasplante inmunosuprimidos (virus BK). También se ha aislado el SV40 de humanos. La mayor parte de las especies animales albergan uno o más poliomavirus y papillomavirus. Los papovavirus producen infección crónica y latente en sus huéspedes naturales y todos pueden inducir tumores en algunas especies de animales. Los papillomavirus son factores causales del cáncer genital del ser humano.

Adenovirus. Virus de tamaño intermedio (80 a 110 nm) carentes de envoltura y que muestran simetría cúbica con 252 capsómeros. Del vértice del capsómero sobresalen algunas fibras. El genoma es lineal con ADN de cadena doble, de 36 a 38 kpb de tamaño. La replicación tiene lugar en el núcleo. Complejos patrones de empalme (*splicing*) producen diversos ARNm. Se pueden encontrar al menos 47 tipos de virus que infectan al hombre, especialmente en las mucosas y algunos tipos pueden persistir en el tejido linfóide. Otros adenovirus causan infección respiratoria aguda, conjuntivitis y gastroenteritis. Algunos adenovirus humanos pueden inducir tumores en cobayos recién nacidos. Existen muchos serotipos que infectan animales.

Herpesvirus. Es una extensa familia de virus de 150 a 200 nm de diámetro. La nucleocápside, con simetría cúbica y 162 capsómeros, rodeada de una envoltura que contiene lípidos. El genoma es un ADN lineal de doble cadena, de 124 a 235 kpb de tamaño. La presencia de secuencias terminales e internas repetidas produce varias formas isométricas de ADN genómico. El virión contiene más de 30 proteínas.

La infección latente puede persistir durante toda la vida del huésped, habitualmente en las células ganglionares o en las linfoblastoides. Los herpesvirus humanos incluyen el herpes simple tipos 1 y 2 (lesiones bucales y genitales), virus de *Epstein-Barr* (mononucleosis infecciosa y vinculado con neoplasia humana), virus varicela zoster (herpes y varicela), citomegalovirus, herpesvirus humano 6 y 7 (linfotrópicos T) y herpesvirus 8 (vinculado con sarcoma de Kaposi). Otros herpesvirus se encuentran en muchos animales.

Poxvirus. Virus grandes con forma de ladrillo u ovoide de 220 a 450 nm de longitud x 140 a 260 nm de ancho x 140 a 260 nm de espesor. La estructura de la partícula es compleja, con una envoltura que contiene lípidos. El genoma es lineal de doble cadena cerrado mediante unión covalente, y de 130 a 375 kpb de longitud. Las partículas poxvirus contienen casi 100 proteínas, las cuales incluyen muchas con actividades enzimáticas, como ARN polimerasa dependiente del ADN. La replicación tiene lugar por completo dentro del citoplasma celular. Todos los poxvirus tienden a producir lesiones cutáneas. Algunos son patógenos para humanos (viruela, vacuna, molusco contagioso); otros, patógenos para animales, pueden infectar al ser humano.

Hepadnavirus. Virus pequeño (40 a 48 nm) con molécula de ADN de doble cadena circular y de 3,2 kpb de tamaño. El ADN viral contiene un tramo de cadena simple en las partículas. El virión contiene una ADN polimerasa capaz de convertir las cadenas en moléculas de doble cadena íntegramente. La replicación implica la reparación del tramo de cadena simple en el ADN, transcripción del ARN y transcripción inversa del ARN para formar el ADN genómico. El virus consta de una nucleocápside central icosaédrica de 27 nm dentro de

una envoltura que contiene lípidos estrechamente adherida a la superficie antigénica viral. Por lo general, la proteína de la superficie se produce en exceso durante la replicación del virus, que tiene lugar en el hígado, y se desprenden hacia el torrente sanguíneo. Los hepadnavirus causan hepatitis crónica y aguda; las infecciones persistentes se acompañan de un alto riesgo para desarrollar cáncer hepático. Se conocen tres tipos de virus que infectan a mamíferos (humanos, marmotas y ardillas terrestre) y otros infectan a patos.

ESTUDIO DE VIRUS QUE CONTIENEN ARN

Picornavirus. Virus pequeño (28 a 30 nm) resistente al éter, presentan simetría cúbica. El genoma de ARN es una cadena simple en sentido positivo, es decir, puede servir como ARNm y su tamaño es de 7,2 a 8,4 kb. Los grupos que infectan al ser humano son enterovirus (*polio-*, *coxsackie-*, *echovirus*), rinovirus (más de 100 serotipos causantes del catarro común) y hepatovirus (hepatitis A). Los rinovirus son lábiles en medio ácido y tienen una gran densidad; los enterovirus son estables y muestran menor densidad. Los picornavirus que infectan animales incluyen la enfermedad de boca y pie del ganado vacuno y la encefalomiocarditis de los roedores.

Astrovirus. Similares en tamaño a los picornavirus (28 a 30 nm), pero las partículas pueden mostrar un diseño peculiar en forma de estrella sobre su superficie. El genoma es un ARN de cadena única, lineal, en sentido positivo, y de 7,2 a 7,9 kb. Estos agentes se vinculan con gastroenteritis en el ser humano y en los animales.

Calicivirus. Similares a los picornavirus, pero un poco más grandes (27 a 38 nm). Las partículas presentan depresiones en forma de copa sobre su superficie. El genoma es un ARN de una sola cadena en sentido positivo, y de 7,4 a 7,7 kb de tamaño; el virión no posee envoltura. Los patógenos humanos importantes son el virus *Norwalk*, que causa gastroenteritis epidémica aguda, y el virus de la hepatitis E. Otros agentes infectan gatos, leones marinos y primates.

Reovirus. Virus de tamaño intermedio (60 a 80 nm), resistente al éter, sin envoltura y con simetría icosaédrica. Las partículas tienen 2 ó 3 cubiertas proteínicas con conductos extendidos desde la superficie hasta el centro; espinas cortas prolongadas a partir de la superficie del virión.

El genoma es un ARN segmentado, lineal, de doble cadena, cuya longitud total es 16 a 27 kpb. Los segmentos individuales del ARN varían de tamaño desde 680 hasta 3 900 pb. La replicación ocurre en el citoplasma; el reacondo de los segmentos del genoma ocurre con rapidez. Los reovirus de humano incluyen los rotavirus, con un aspecto distintivo en forma de rueda de carreta causantes de gastroenteritis. Reovirus antigénicamente similares infectan a muchos animales. El género *Coltivirus* incluye de los humanos causantes de la fiebre por garrapata de Colorado.

Arbovirus. Un grupo ecológico de virus con diversas propiedades físicas y químicas. Todos estos virus (hay más de 350) poseen un ciclo complejo que implica como vectores a los artrópodos, los cuales transmiten el virus a los huéspedes vertebrados a través de picaduras. La replicación viral no parece dañar al artrópodo infectado. Los arbovirus infectan a humanos, mamíferos, pájaros y serpientes, y utilizan como vectores mosquitos y garrapatas. Los patógenos humanos incluyen los virus del dengue, de la encefalitis, de la fiebre amarilla y otros. Los arbovirus pertenecen a varias familias que incluyen virus toga-, flavi-, bunya-, rabdo-, arena-.

Togavirus. A este grupo pertenecen muchos arbovirus que son patógenos importantes para el humano, denominados Alphavirus y también el virus de la rubéola. Poseen una envoltura con lípidos y son sensibles al éter; su genoma es un ARN de una sola cadena en sentido positivo y 9,7 a 11,8 kb. El virión cubierto mide 50 a 70 nm. Las partículas virales maduran por gemación a partir de las membranas celulares. Un ejemplo es el virus de la encefalitis equina del este. El virus de la rubéola no tiene vector artrópodo.

Flavivirus. Virus con envoltura de 45 a 60 nm de diámetro con una sola cadena de ARN en sentido positivo. El tamaño del genoma varía de 9,5 kb (hepatitis C) a 10,7 kb (flavivirus) a 12,5 kb (pestitivirus). Los viriones maduros se acumulan en las cisternas del retículo endoplasmático. Este grupo de arbovirus incluye el virus de la fiebre amarilla y el del dengue. La mayor parte de sus miembros se transmite a través de artrópodos hematófagos. El virus de

la hepatitis C no tiene vector conocido.

Arenavirus. Virus pleomórficos con envoltura, cuyo tamaño varía de 50 a 300 nm. El genoma es una cadena sola de ARN, segmentada, circular (en sentido negativo y en ambos sentidos), de 10 a 14 kb de longitud total. La replicación ocurre en el citoplasma con ensamblado a través de gemación sobre la membrana plasmática. Los viriones se incorporan al ribosoma de la célula del huésped durante su maduración, esto confiere a las partículas un aspecto "arenoso". Casi todos los miembros de esta familia solo se encuentran en la porción tropical de América (o sea, el complejo Tacaribe). Todos los arenavirus son patógenos para el humano causan infecciones crónicas en los roedores. El virus de la fiebre de Lassa de África es un ejemplo. Estos virus requieren en el laboratorio condiciones de máxima seguridad.

Coronavirus. Partícula de 80 a 220 nm que poseen envoltura y contienen un genoma no segmentado de una sola cadena de ARN en sentido positivo con 20 a 30 kb de longitud; la nucleocápside es helicoidal, de 10 a 20 nm de diámetro. Los coronavirus se asemejan a los ortomixovirus, pero poseen prolongaciones en forma de pétalos en su superficie dispuestas en un reborde parecido a una corona solar. En los coronavirus la nucleocápside se desarrolla en el citoplasma y madura por gemación en las vesículas citoplasmáticas. Estos virus poseen una variedad escasa de huéspedes. Los coronavirus humanos causan enfermedades agudas de las vías respiratorias superiores: "resfriados". Los torovirus, que causan gastroenteritis, forman un género distinto. Los coronavirus de animales producen infecciones persistentes; incluyen el virus de la hepatitis murina y el virus de la bronquitis infecciosa aviar.

Retrovirus. Virus esféricos envueltos (80 a 100 nm de diámetros) cuyo genoma contiene dos copias de una cadena de sola de ARN, lineal en sentido positivo y la misma polaridad del ARNm viral. Cada monómero del ARN tiene 7 a 11 kb de largo. Las partículas contienen una nucleocápside helicoidal dentro de una cápside icosaédrica. La duplicación es peculiar; el virión contiene una enzima transcriptasa inversa que produce una copia de ADN a partir del genoma de ARN. Este ADN forma un círculo y se integra al ADN cromosómico del huésped. Enseguida, el virus se replica a partir de la copia de ADN integrada, "provirus". El ensamblado del virión ocurre por gemación sobre la membrana plasmática. El huésped permanece crónicamente infectado. Los retrovirus están ampliamente distribuidos en la mayor parte de las especies; existen también provirus endógenos como resultados de antiguas infecciones de las células germinales transmitidas a genes heredados. En este grupo se incluyen los virus de la leucemia y del sarcoma de animales y humanos, virus espumosos de los primates y lentivirus (virus de la inmunodeficiencia humana; visna de las ovejas. Los retrovirus producen el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y hacen posible la identificación de oncogenes celulares.

Bunyavirus. Partículas cubiertas, esféricas o pleomórficas, de 80 a 120 nm. El genoma está formado por una cadena sola de ARN en sentido negativo o en ambos sentidos, y triplemente segmentada; el tamaño total es de 11 a 21 kpb. Los viriones contienen tres nucleocápsides circulares simétricamente helicoidales de casi 2,5 nm de diámetro y de 200 a 3 000 nm de longitud. Se reproducen en el citoplasma y su envoltura se forma por gemación en el sistema Golgi.

La mayor parte de estos virus se transmiten a los vertebrados mediante artrópodos (arbovirus). Los hantavirus no se transmiten por artrópodos, sino por roedores crónicamente infectados a través de aerosoles de las excretas contaminadas. Causan fiebres hemorrágicas y nefropatías, y también un síndrome pulmonar grave.

Ortomixovirus. Virus de tamaño mediano, de 80 a 120 nm, provisto de envoltura y con simetría helicoidal. Las partículas pueden ser esféricas o filamentosas, con prolongaciones superficiales que contienen hemaglutininas o actividad de neuroaminidasa. El genoma es una cadena única de ARN lineal, segmentado, en sentido negativo, con dimensiones total de 10 a 13,6 kb. Los segmentos varían de 900 a 2 350 nucleótidos cada uno. La hélice interna de nucleoproteína mide de 9 a 15 nm.

Durante la replicación, la nucleocápside se ensambla en el núcleo, en tanto se acumulan en el citoplasma hemaglutininas y neuroaminidasa.

El virus madura por gemación en la membrana celular. Todos los ortomixovirus son virus de influenza que infectan al humano o a los animales. La naturaleza segmentada de este

genoma viral permite una fácil reconstitución genética cuando dos virus infectan la misma célula, esto presumiblemente explica la elevada tasa de variaciones naturales entre estos virus. Se considera la transmisión interespecies para explicar el surgimiento de nuevas cepas humanas de virus de influenza A causantes de pandemias.

Paramixovirus. Similares a los ortomixovirus, pero de mayor tamaño (150 a 300 nm). La nucleocápside interna mide de 13 a 18 nm, y la cadena única lineal no segmentada de ARN tiene sentido negativo y mide 16 a 20 kb de longitud. Tanto la nucleocápside como la hemaglutinina se forman en el citoplasma. Los virus que infectan al ser humano incluyen los de la parotiditis, sarampión, parainfluenza y el sincitial respiratorio. Estos virus tienen una reducida variedad de huéspedes. A diferencia de la influenza, los paramixovirus son genéticamente estables.

Rabdovirus. Viriones cubiertos que recuerdan una bala, aplanados en un extremo y redondeados en el otro, miden casi 75 x 180 nm. La envoltura tiene espinas de 10 nm. El genoma es una sola cadena de ARN, lineal no segmentada, en sentido negativo, de 13 a 16 kb de longitud. Las partículas se forman por gemación a partir de la membrana celular. Estos virus tienen una amplia variedad de huéspedes. El virus de la rabia es miembro de este grupo.

Filovirus. Virus pleomórfico con envoltura que a veces parecen fibras alargadas. Por lo regular presentan 80 nm de ancho y 1 000 nm de largo. La envoltura contiene grandes peplómeros. El genoma es una sola cadena de ARN, lineal en sentido negativo, de 19,1 kb de longitud. En África, los virus Marburg y Ebola causan fiebre hemorrágica grave. Estos virus requieren máximas condiciones de contención (nivel IV de bioseguridad) para su manejo.

Otros virus. No hay información suficiente para establecer una clasificación. Esto se aplica a los agentes causantes de enfermedades virales "lentas" o no convencionales, que incluyen a las enfermedades neurológicas degenerativas como el kuru, la enfermedad Creutzfeldt-Jakob o la espongiforme (*scrapie*) de las ovejas, algunos virus de la gastroenteritis y el virus de la enfermedad Borna, que puede vincularse con trastornos neuropsiquiátricos del humano.

Viroides. Agentes infecciosos pequeños causantes de enfermedad en las plantas. Los viroides son agentes que no satisfacen la definición de virus clásico. Son moléculas de ácido nucleico (PM 70 000 a 120 000) sin cubierta de proteína. Los viroides de plantas son moléculas de ARN de cadena única, cerradas circularmente mediante uniones covalentes formadas por casi 360 nucleótidos y que comprenden una estructura semejante a bastón con gran número de pares de bases. Los viroides se reproducen por un mecanismo novedoso. El ARN del viroide no codifica producto proteínico alguno; las devastadoras enfermedades de las plantas inducidas por los citoplasmas viroides ocurren por un mecanismo desconocido. Hasta la fecha solo se han detectado viroides en plantas; no se ha demostrado su existencia en animales o humanos.

ESTRUCTURA Y TAMAÑO DE LOS VIRUS

Como está establecido los virus carecen de estructura celular, no tienen núcleo, membrana o pared celular. Se multiplican únicamente dentro de las células vivas, fuera de éstas son totalmente inertes. Cada partícula vírica está formada de solo dos partes principales: el ácido nucleico (ADN o ARN) y una cubierta protectora de proteína denominada cápside. Por último, los virus pueden presentar o no una membrana exterior llamada envoltura o peplómeros.

La forma de los virus está determinada por la cápside, por tanto, el estudio de la forma no es más que el estudio de la cápside proteica. Conocer la estructura del virus incrementa el conocimiento del mecanismo de ciertos procesos, como la interacción de partículas virales con receptores de la superficie celular y anticuerpos neutralizantes. También puede conducir al diseño razonado de fármacos antivirales capaces de impedir la adhesión del virus, la pérdida de su cubierta o el ensamblado de éste en células susceptibles.

El microscopio electrónico, la microscopía crioelectrónica, y las técnicas de difracción de rayos X permiten la determinación de diferencias finas en la morfología básica de los virus. El estudio de la simetría viral mediante microscopía electrónica estándar requiere de colorantes a base de metales pesados (por ejemplo, fosfotungstato de potasio) para resaltar las estructuras de la superficie. El metal pesado permea la partícula viral igual que una sombra y muestra la estructura de la superficie del virus gracias a la "tinción negativa". El valor

típico de resolución es de 3 a 4 nm (las dimensiones de una doble hélice del ADN son 2 nm). Sin embargo, los métodos convencionales para preparar la muestra con frecuencia deforman y cambian la morfología de la partícula. La microscopía crioelectrónica emplea muestras de virus congelados en hielo cristalino con métodos rápidos, para conservar así los rasgos estructurales finos y evitar el uso de tinción negativa. Con el empleo de procedimientos para el procesamiento de la imagen por computadora se puede lograr información estructural tridimensional.

La cristalografía de rayos X puede suministrar información a nivel de resolución atómica, generalmente de 0,2 a 0,3 nm. No obstante, la muestra debe ser cristalina, y esto solo se ha logrado con virus pequeños desprovistos de envoltura. Sin embargo, es posible obtener datos estructurales con gran resolución de subestructuras bien definidas preparadas de virus más complejos.

La economía genética requiere que la estructura viral se forme con muchas moléculas idénticas de una o unas cuantas proteínas. La arquitectura viral se puede agrupar en tres tipos con base en el arreglo de las subunidades morfológicas:

1. Con simetría cúbica, por ejemplo, adenovirus.
2. Con simetría helicoidal, como ortomixovirus.
3. Con estructura compleja, por ejemplo, *poxvirus*.
 - a) Simetría cúbica: toda simetría cúbica observada en los virus animales es de patrón icosaédrico, el arreglo más eficiente para subunidades dentro de una cubierta cerrada. El icosaedro posee 20 caras (cada una de simetría rotacional es un triángulo equilátero), 12 vértices y ejes quintuples, triple y doble. Los vértices de las unidades tienen cinco vecinos (pentavalentes), y todas las otras unidades poseen seis (hexavalentes).

Hay exactamente 60 subunidades idénticas sobre la superficie de un icosaedro. Para construir una partícula del tamaño adecuado para encerrar el genoma viral, las cubiertas virales se componen de múltiplos de 60 unidades estructurales. Cuando se emplean cantidades mayores de subunidades proteínicas químicamente idénticas, se cumplen las reglas de la simetría icosaédrica gracias a una subtriangulación de cada cara de un icosaedro.

Los virus que muestran simetría icosaédrica pueden agruparse según su número de triangulación T, que corresponde al número de triángulos pequeños formados sobre una cara del icosaedro cuando todas sus subunidades morfológicas adyacentes se conectan con líneas. El número de unidades morfológicas se expresa por la fórmula $M=10T + 2$. El número de posiciones hexavalentes es $10(T-1)$; siempre hay 12 posiciones pentavalentes. Los polipéptidos que constituyen los pentámeros y hexámeros de la cápside pueden ser iguales o diferentes, según el virus.

En la figura 54.2 se presenta un esquema de la estructura cúbica.

1. Simetría helicoidal: en el caso de la simetría helicoidal, las subunidades de proteínas se unen periódicamente al ácido nucleico viral, formando una hélice. El complejo ácido nucleico viral filamentos-proteína (nucleo--cápside) a continuación se enrolla dentro de una envoltura que contiene lípidos. Por tanto, a diferencia del caso de la estructura icosaédrica, en los virus con simetría helicoidal hay interacción periódica regular entre las proteínas de la cápside y el ácido nucleico. No es posible la formación de partículas helicoidales "vacías" (Fig. 54.3).
2. Estructuras complejas: algunas partículas de virus no muestran simetría simple cúbica o helicoidal, sino que presentan una estructura más complicada. Por ejemplo, los poxvirus tienen forma de ladrillo con crestas sobre la superficie y corpúsculos centrales y laterales en su interior (Fig 54.4).

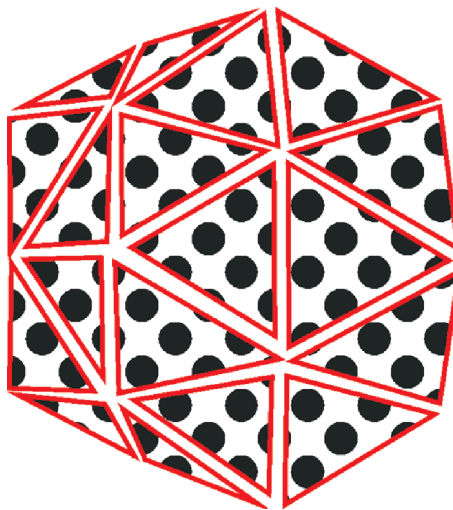


Fig. 54.2 Esquema de un virus de estructura cúbica.

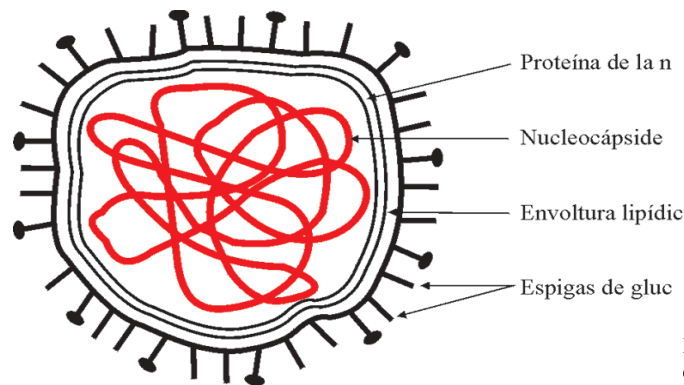


Fig. 54.3. Esquema de un virus de estructura helicoidal.

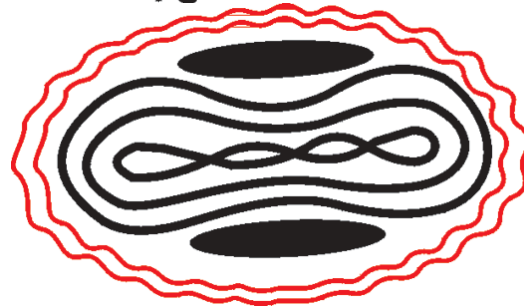


Fig. 54.4. Esquema de un virus de estructura compleja.

Mediciones del tamaño de los virus. El tamaño tan pequeño y la facilidad para pasar a través de los filtros que retienen a las bacterias constituyen los atributos clásicos de los virus. Sin embargo, en virtud de que algunas bacterias pueden ser más pequeñas que los virus más grandes, la filtrabilidad ya no se considera como característica peculiar de los virus. Para determinar el tamaño de los virus y sus componentes se emplean los métodos siguientes:

1. Observación directa con el microscopio electrónico: el microscopio electrónico comparado con el microscopio de luz, emplea electrones y no ondas luminosas, y lentes electromagnéticas en lugar de lentes de cristal. El rayo de electrones tiene una longitud de onda mucho más corta que la correspondiente a la luz visible, de modo que se pueda observar objetos mucho más pequeños que la longitud de onda de luz visible o de la luz ultravioleta. Los virus se pueden observar en preparaciones de extractos de tejidos y en cortes ultrafinos de células infectadas. La microscopía electrónica es el método más utilizado para estimar el tamaño de la partícula.
2. Filtración a través de membranas con poros graduados: se dispone de membranas con poros de diferentes tamaños. Si la preparación viral pasa a través de una serie de membranas con tamaño de poro conocido, se puede medir el tamaño aproximado de cualquier virus determinando cuál membrana permite el paso de la unidad infectante y cuál la retiene. El tamaño del DPP (diámetro promedio del poro) limitante multiplicado por 0,64 equivale al diámetro de la partícula del virus. El paso de un virus a través de un filtro depende de la estructura física del virus; por tanto, solo se obtiene un tamaño aproximado.
3. Sedimentación en la ultracentrífuga: si las partículas se encuentran suspendidas en un líquido se asientan en el fondo con una tasa proporcional a su tamaño. Una ultracentrífuga puede generar fuerzas mayores de 100 000 veces la fuerza de gravedad para dirigir las partículas al fondo del tubo. La interrelación entre el tamaño y forma de una partícula y su velocidad de sedimentación permite determinar el tamaño de la partícula. Una vez más, la estructura física del virus afecta la estimación del tamaño obtenido.
4. Mediciones comparativas: los siguientes datos deben recordarse como referencias:
 - a) El *Staphylococcus* tiene un diámetro de casi 1 000 nm.
 - b) Los virus de bacterias (bacteriófagos) son de tamaño variable (10 a 100 nm). Algunos son esféricos o hexagonales y poseen apéndices cortos o largos.
 - c) El diámetro de las moléculas representativas de proteínas varía desde 5 nm (albúmina del suero) y 7 nm (globulinas) hasta 23 nm (ciertas hemocianinas).

En la Figura 54.5 se muestran el tamaño relativo y la morfología de varias familias de virus.

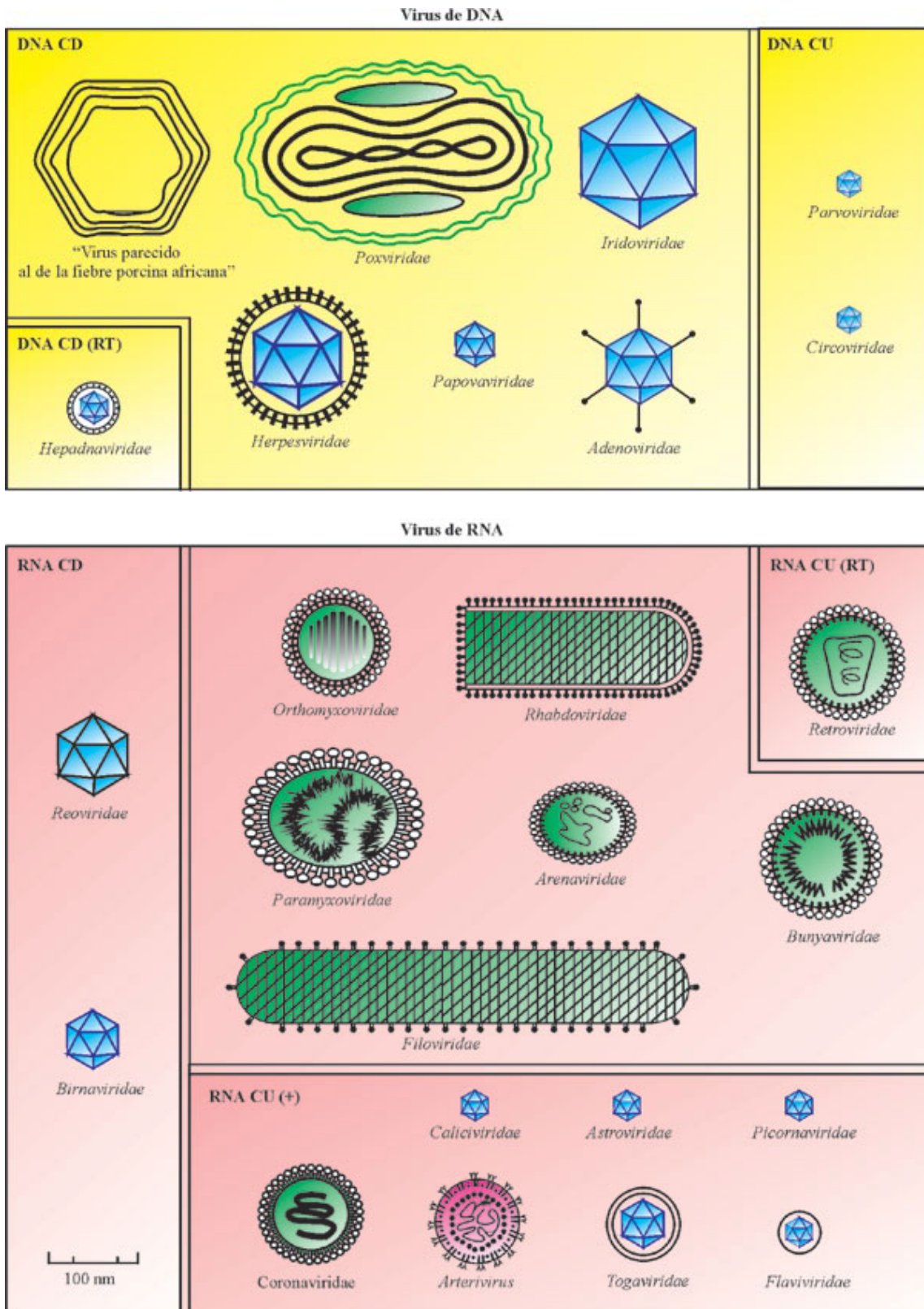


Fig. 54.5. Esquema del tamaño relativo y morfología de varias familias de virus.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VIRUS

Proteínas virales. El principal constituyente de todos los virus animales son las *proteínas*. Las proteínas son el único componente de la cápside; son el principal componente de las envolturas y están íntimamente asociadas, como proteínas internas, con los ácidos nucleicos de muchos virus icosaédricos. Todas estas proteínas se denominan proteínas estructurales, ya que su función es servir como bloques para la construcción de viriones y casi siempre son codificadas por el genoma viral.

Las proteínas estructurales de los virus desempeñan varias funciones importantes. La principal es facilitar la transferencia del ácido nucleico viral de una célula huésped a otra. Sirven para proteger el genoma viral contra la inactivación por nucleasas, participan en la adhesión de la partícula viral a una célula susceptible, y confieren simetría a la partícula del virus.

Las proteínas determinan las características antigénicas del virus. La respuesta inmunoprotectora del huésped se orienta contra los determinantes antigénicos de proteínas o glucoproteínas expuestas sobre la superficie de la partícula viral.

Algunas proteínas de la superficie también pueden mostrar actividades específicas, por ejemplo, la hemaglutinina del virus de la influenza aglutina los eritrocitos de distintas especies animales.

Algunos virus contienen enzimas (que son proteínas) dentro del virión. Las enzimas se presentan en cantidades muy pequeñas y probablemente no son importantes para la estructura de la partícula viral, sin embargo, son indispensables para iniciar el ciclo replicativo viral cuando el virión penetra en la célula huésped. Los ejemplos incluyen una ARN polimerasa de los virus con genoma de ARN de sentido negativo (por ejemplo, ortomixovirus, rabdovirus) necesaria para copiar el primer ARNm y la transcripción inversa, una enzima de los retrovirus que copia el ADN a partir del ARN viral, paso indispensable para la replicación y transformación. Los poxvirus constituyen un ejemplo extremo en relación con esto porque contienen en su centro un sistema de transcripción; en las partículas de poxvirus se encuentran concentradas muchas enzimas diferentes.

Ácido nucleico viral. Aunque cuantitativamente no representa el mayor componente, es fisiológicamente de gran importancia puesto que en este radica toda la información genética de la partícula, y se puede decir en este sentido que el virión es considerado como la forma de conservar y transportar el ácido nucleico en el medio extracelular.

Los virus contienen un solo tipo de ácido nucleico, sea ADN o ARN, que codifica la información genética necesaria para la replicación del virus. El genoma puede ser de cadena única o doble, circular o lineal, y segmentado o no. El tipo de ácido nucleico, la cadena y tamaño de esta son las características principales que se utilizan para clasificar los virus en familias. El tamaño del genoma viral de ADN varía de 3,2 kpb (hepadnavirus) a 375 kpb (poxvirus). El tamaño del genoma viral de ARN varía de casi 7 kb (algunos picornavirus y astrovirus) a 30 kb (coronavirus).

Los grupos virales principales de ADN tienen genomas que son moléculas únicas de ADN y muestran una configuración lineal o circular.

El ARN viral existe en varias formas. Puede ser una sola molécula lineal (por ejemplo, picornavirus). En otros virus (por ejemplo, ortomixovirus), el genoma consta de varios segmentos de ARN que pueden unirse laxamente en el virión. El ARN aislado de los virus con genoma en sentido positivo (por ejemplo, togavirus) es infectante, y la molécula funciona como ARNm dentro de la célula infectada. El ARN aislado de los virus de ARN de sentido negativo, como rabdovirus y ortomixovirus, no es infectante. En estas familias virales, los viriones contienen una ARN polimerasa la cual dentro de la célula transcribe las moléculas de ARN en varias moléculas de ARN complementarias y cada una puede servir como ARNm. La secuencia y composición de los nucleótidos de cada ácido nucleico viral es definitiva. Se han secuenciado muchos genomas virales. Las secuencias pueden revelar interrelaciones genéticas entre los virus aislados. Se puede estimar el número de genes en un virus a partir de los marcos de lectura abiertos, deducidos de la secuencia del ácido nucleico. Aunque estas estimaciones no son precisas, las cifras sirven para ilustrar la complejidad variable y la capacidad relativa de codificación de los diferentes grupos virales.

El ácido nucleico viral se puede caracterizar por su contenido G + C. Los genomas virales de ADN se pueden analizar y comparar utilizando endonucleasas de restricción, enzimas que escinden el ADN en secuencias específicas de nucleótidos. Cada genoma

produce un patrón característico de fragmentos de ADN después de la escisión con una enzima particular. Con el uso de copias del ADN, también se pueden derivar mapas de restricción de los genomas virales de ARN. Los análisis con la reacción en cadena de la polimerasa y con técnicas de hibridación molecular (ADN a ADN, ADN a ARN o ARN a ARN) permiten estudiar la transcripción del genoma viral dentro de la célula infectada y también comparar el parentesco de diferentes virus.

Envoltura lipídica de los virus. Las envolturas virales contienen mezclas complejas de lípidos neutros, fosfolípidos y glucolípidos. Como regla general, la composición de estas mezclas se asemeja a la membrana de la célula huésped en las cuales el virus se multiplica. La nucleocápside viral adquiere los lípidos cuando sufre gemación a través de una membrana celular en el curso de la maduración. La gemación solo ocurre en sitios donde se han introducido proteínas específicas del virus en la membrana de la célula huésped. El proceso de gemación varía notablemente según la estrategia de multiplicación del virus y la estructura de la nucleocápside. En la Figura 54.6 se resumen las diferentes maneras para que un virus animal adquiera una envoltura.

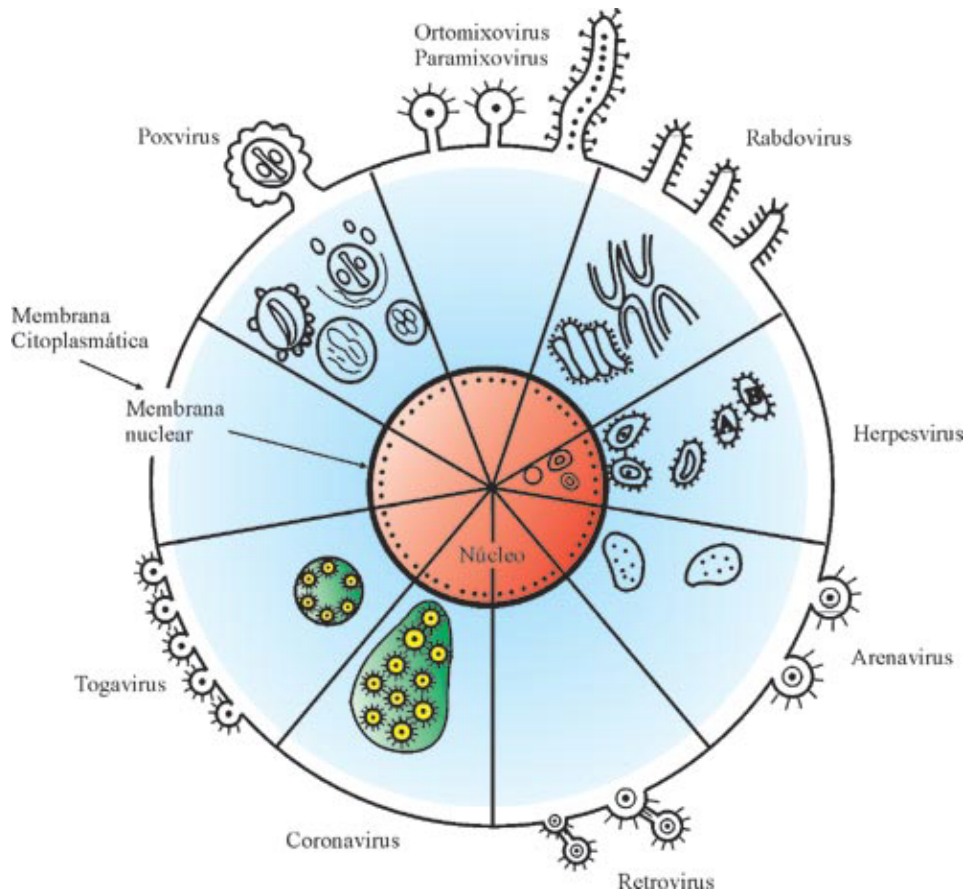


Figura 54.6. Esquema de las diferentes maneras que un virus adquiere una envoltura.

Siempre hay proteínas virales glucosiladas que sobresalen de la envoltura y están expuestas sobre la superficie externa de la partícula viral. Existen proteínas no glucosiladas de origen viral por debajo de la envoltura, las cuales mantienen unida a la partícula.

Los virus que contienen lípidos son sensibles al tratamiento con éter y otros solventes orgánicos, que indica que la fragmentación o pérdida de los lípidos causa pérdida de la infecciosidad. Los virus sin lípidos, en general, son resistentes al éter.

Glucoproteínas virales. Las envolturas virales contienen glucoproteínas. En contraste con los lípidos de las membranas virales, derivados de la célula huésped, las glucoproteínas de la envoltura son codificadas por el genoma viral. Sin embargo, los azúcares añadidos a las glucoproteínas virales con frecuencia reflejan los de la célula huésped donde crece el virus.

Las glucoproteínas de la superficie de una envoltura viral adhieren la partícula viral a una célula específica mediante la interacción con un receptor celular. Con frecuencia, también se les implica en la etapa de fusión con la membrana durante la infección. Además, las

glucoproteínas son importantes antígenos virales. Como consecuencia de su posición en la superficie exterior del virión, casi siempre participan en la interacción de la partícula viral con el anticuerpo neutralizante. La estructura tridimensional de la región externa expuesta de las dos glucoproteínas de la membrana del virus de la influenza (hemaglutinina y neurominidasa) se determinaron mediante cristalografía de rayos X. Estos estudios suministran conocimientos acerca de la estructura antigénica y de las actividades funcionales de las glucoproteínas virales.

CULTIVO Y ANÁLISIS DE LOS VIRUS

La virología y otras múltiples disciplinas relacionadas, agradecen ampliamente sus progresos a los métodos de cultivos celulares bajo condiciones estrictamente controladas. La disponibilidad de células que crecen *in vitro* ha facilitado el aislamiento, la identificación y cultivo de virus de recientes aislamientos y la caracterización de los mismos y de algunos ya conocidos. Hay tres tipos básicos de cultivo de células, se califican de *primarios* los cultivos celulares que proceden directamente de los tejidos de órganos u otras estructuras, los cuales son tripsinizados obteniéndose suspensiones celulares, las cuales son cultivadas en medios apropiados y no se subcultivan; se denominan cultivos *secundarios* cuando han experimentado pases *in vitro*, estos pueden ser líneas de células diploides, en las que las células han sufrido un cambio que permite su cultivo limitado (hasta 50 pases), pero retienen su patrón cromosómico normal y las líneas continuas de células que son cultivos capaces de crecimiento más prolongado quizás indefinido, derivados de líneas celulares diploides o de tejidos malignos. Invariablemente contienen un número irregular de cromosomas alterados.

La utilización de huevos embrionados y animales de experimentación, también han sido utilizados para el aislamiento y multiplicación de los virus con distintos fines (por ejemplo, en embrión fértil el cual se utiliza en la producción de vacunas para el virus de influenza y los animales de experimentación para realizar estudios de patogenia de las enfermedades de etiología viral).

El tipo de cultivo celular utilizado para el cultivo viral depende de la susceptibilidad de la célula a dicho virus en particular. En el laboratorio la multiplicación de un virus se puede detectar de varias maneras:



Fig. 54.7. Cultivo celular vero normal.

1. Desarrollo de efectos citopáticos, es decir, cambios morfológicos en las células. Los efectos citopáticos inducidos por virus son de varios tipos e incluyen lisis o necrosis celular, formación de inclusiones, aparición de células gigantes y formación de vacuolas. Casi todos los virus producen algún efecto, generalmente característico del grupo viral (Figs. 54.7-8).
2. Aspecto de la proteína codificada por el virus, como la emaglutinina del virus de la influenza. Se pueden emplear antisueros específicos para detectar la síntesis de proteínas virales en células infectadas.
3. Adsorción de eritrocitos a las células infectadas, denominada hemadsorción, por la presencia de hemaglutinina codificada por el virus (parainfluenza) en la membrana celular. Esta reacción es positiva antes que los cambios citopáticos sean visibles. Y en algunos casos aparece en ausencia de efectos citopáticos.
4. Interferencia de un virus no citopático (por ejemplo, rubéola) con la multiplicación e inducción de efecto citopático por un segundo virus agresor (por ejemplo, echovirus) añadido como indicador.
5. Transformación morfológica por un virus oncogénico (por ejemplo, virus del sarcoma de Rous), habitualmente acompañada por pérdida de la inhibición por contacto y apilamiento de las células en focos discretos.

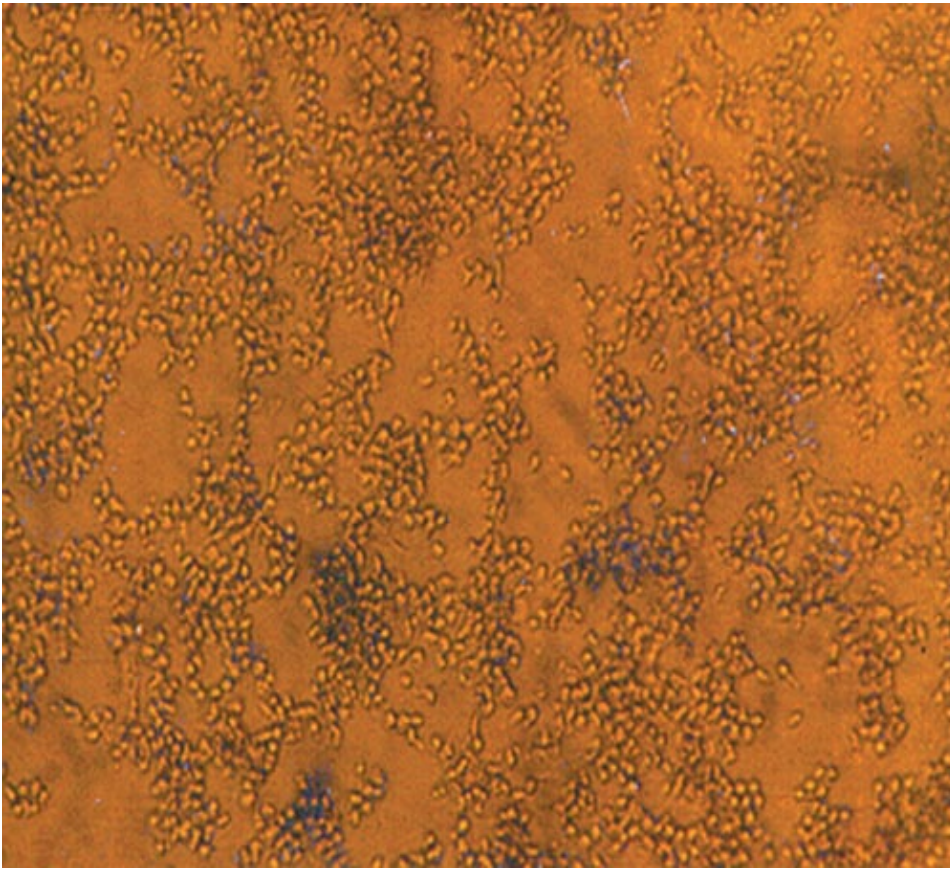


Fig. 54.8. Cultivo celular vero con efecto citopático de adenovirus.

6. El crecimiento del virus en un embrión de pollo puede provocar la muerte del embrión (por ejemplo, virus de la encefalitis), producir pústulas o placas sobre la membrana corioalantoidea (como por ejemplo, herpes, viruela), desarrollar hemaglutininas en los líquidos o tejidos embrionarios (por ejemplo, influenza).

Formación de cuerpos de inclusión. En el curso de la multiplicación viral dentro de las células se pueden producir estructuras específicas de los virus denominadas *cuerpos de inclusión*. A veces adquieren mayor tamaño que la partícula viral individual y con frecuencia poseen afinidad por colorantes ácidos (por ejemplo, eosina). Pueden aparecer en el núcleo (herpesvirus), el citoplasma (poxvirus) o en ambos (virus del sarampión). En muchas infecciones virales los cuerpos de inclusión son el punto donde se desarrollan los viriones. En ciertas infecciones (poxvirus, reovirus) el cuerpo de inclusión consta de masas de partículas virales en proceso de replicación. En otras (como en el herpes) el virus se multiplica desde el principio de la infección, y el cuerpo de inclusión parece ser un residuo de la multiplicación viral.

La presencia de cuerpo de inclusión puede tener importancia diagnóstica considerable. Las inclusiones intracitoplásmicas en las células nerviosas, los cuerpos de Negri, son patognomónicas de la rabia.

Daños a los cromosomas. Una de las consecuencias de la infección de las células por ciertos virus es la alteración del cariotipo. Los cambios observados son al azar. Puede presentarse rotura, fragmentación, redistribución de los cromosomas, cromosomas anormales y cambios en el número de los cromosomas. Hasta la fecha no se han identificado alteraciones cromosómicas patognomónicas en las células de humanos infectadas por virus.

CUANTIFICACIÓN DE LOS VIRUS

1. *Métodos físicos*: las partículas virales pueden ser contadas directamente en el microscopio electrónico mediante su comparación con una suspensión estándar de partículas de látex de tamaño semejante. Sin embargo, una preparación relativamente concentrada de virus es necesaria para este procedimiento, y las partículas virales infectantes no pueden ser distinguidas de las no infectantes.

Hemaglutinación: los eritrocitos humanos, del pollo y de otras especies de animales pueden ser aglutinados por muchos virus diferentes. La hemaglutinación por virus ha conducido a métodos de conteo rápido y baratos para el análisis viral. Ya que los virus no infectantes dan la reacción, la prueba mide el total de partículas virales presente.

Algunas pruebas serológicas, como el radioinmunoensayo (RIA) y el análisis de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA); pueden estandarizarse para cuantificar la cantidad de virus en una muestra. Estas pruebas no distinguen partículas infectantes de no infectantes y a veces detectan proteínas virales no ensambladas en las partículas.

2. *Métodos biológicos*: la medición de la cantidad de virus en términos del número de unidades infecciosas por unidad de volumen se conoce como titulación. Hay diversas formas de determinar el título de una suspensión viral, involucrando todas ellas la infección de un huésped o célula blanco de forma tal que cada partícula que causa una infección provoque una reacción reconocible.

Los análisis biológicos con punto terminal dependen del número de animales muertos, infección en animales, o efecto citopático en los cultivos de tejido, con el virus analizado en diluciones seriadas. El título se expresa como 50 % de la dosis (DI 50), que es recíproca de la dilución del virus que produce efecto en 50 % de las células o de los animales inoculados. Para efectuar análisis precisos es necesario emplear un gran número de sujetos de prueba.

El análisis más ampliamente utilizado para el virus infectante es el análisis en placa. Se inoculan virus en diluciones adecuadas sobre monocapas de células huésped y, después de la adsorción, son recubiertas con medio que contiene agar o carboximetilcelulosa para prevenir la diseminación viral a través del cultivo. Después de varios días, las células inicialmente infectadas han producido virus que se diseminan solo a las células circunvecinas, produciendo una pequeña zona de infección o placa. En condiciones controladas, una sola partícula viral, denominada unidad formadora de placa (UFP) origina infección en una sola placa. Las células infectadas en la placa pueden distinguirse de las células no infectadas, con o sin tinción adecuada. Las placas habitualmente se pueden contar macroscópicamente, señalándose características de estas como tamaño y bordes, que pueden diferenciar cepas dentro de un mismo género. La relación de las partículas físicas infectantes varía ampliamente, desde casi la unidad a menos de 1 por 1 000 (Fig. 54.9).

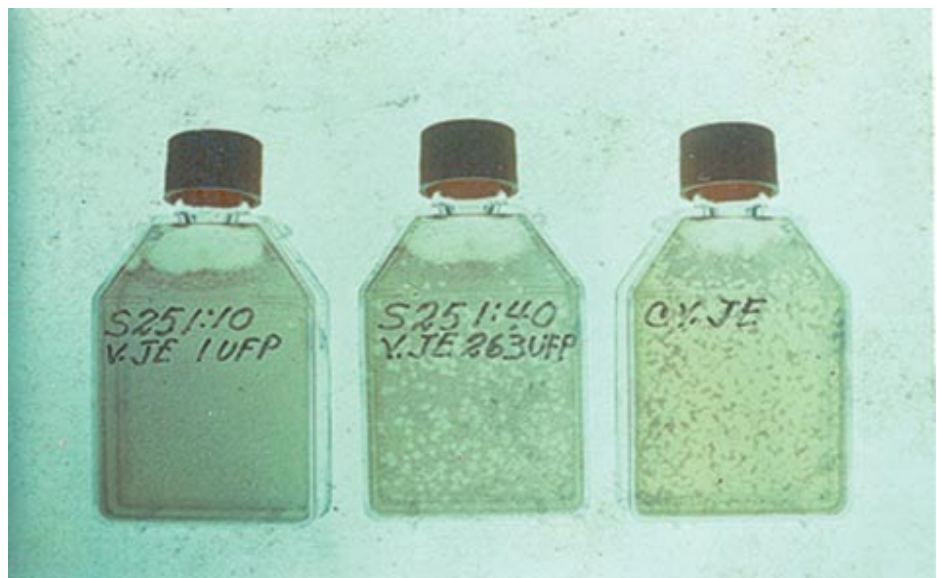


Figura 54.9. Método de unidades formadoras de placas:

Frasco 1: suero diluido 1/10 la presencia de anticuerpos inhibe la formación de placas.

Frasco 2: suero diluido 1/40 ante la presencia de menor cantidad de anticuerpos se forma mayor número de placas.

Frasco 3: control del virus.

Los herpesvirus y virus vacuna, producen pústulas de diferentes tamaños y formas cuando se inoculan sobre la membrana corioalantoidea de un embrión de pollo. Se puede correlacionar el número de pústulas contadas con la dilución viral inoculada.

PURIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LOS VIRUS

Para los estudios de purificación el material inicial por lo general, son grandes volúmenes de medio de cultivo donde se multiplicó el virus, líquidos corporales, o células infectadas. La primera etapa implica concentraciones de las partículas virales por precipitación con sulfato de amonio, etanol o polietilenglicol o mediante ultracentrifugación. Puede usarse la hemaglutinación y elusión para concentrar ortomixovirus. Una vez concentrado, el virus puede separarse de los materiales de huésped mediante centrifugación diferencial, centrifugación por gradiente de densidad, cromatografía en columna y electroforesis. Generalmente, se requieren más de un paso para lograr una purificación adecuada y la combinación de más de un método. El criterio mínimo de pureza es un aspecto homogéneo en las microfotografías electrónicas y el fracaso de procedimientos adicionales de purificación para retirar "contaminantes" sin reducir la infectividad.

Identificación de una partícula como un virus. Cuando se obtiene una partícula físicamente característica debe satisfacer todos los siguientes criterios antes de calificarla como una partícula viral:

1. La partícula solo se puede aislar de células o tejidos infectados.
2. Las partículas obtenidas de varias fuentes son idénticas, cualquiera que sea la especie celular en la cual creció el virus.
3. El grado de actividad infectante de la preparación varía directamente con el número de partículas presentes.
4. El grado de destrucción de la partícula por medios químicos o físicos se acompaña de una pérdida correspondiente de la actividad viral.
5. Debe demostrarse que la infecciosidad y ciertas propiedades de las partículas son idénticas, como su comportamiento de sedimentación en la ultracentrífuga y las curvas de la estabilidad con respecto al pH.
6. El espectro de absorción en el rango ultravioleta de la partícula física purificada debe coincidir con la inactivación del virus en el espectro ultravioleta.
7. Los antisueros preparados contra el virus infectante deben reaccionar con la partícula característica y viceversa. La observación directa de un virus desconocido se puede lograr mediante examen con microscopio electrónico del agregado que se forma en una mezcla de antisuero y suspensión viral cruda.
8. Las partículas deben ser capaces de inducir *in vivo* la enfermedad característica (si estos experimentos son factibles).
9. Los pases sucesivos de las partículas en cultivo de tejidos deben producir una progenie con las propiedades biológicas y serológicas del virus.

SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

Todas las muestras que llegan al laboratorio para su procesamiento e intentos de realizar diagnóstico son potencialmente infecciosas y si no se sigue una metodología apropiada, pueden exponer al personal del laboratorio al riesgo de una infección, por lo que hay que tener en cuenta los siguientes riesgos:

1. Aerosoles generados durante una homogeneización de tejidos, centrifugación, vibraciones ultrasónicas o por rotura de envases de vidrio.
2. Ingestión por pipetear con la boca, por comer o fumar en el laboratorio, o por lavado inapropiado de las manos.
3. Penetración a través de la piel por pinchazo con agujas, rotura de envase de vidrio, contaminación de las manos por escurrimiento de envases, manejo de tejidos infectados, mordeduras de animales.
4. Salpicaduras en los ojos.

Las normas de bioseguridad en el trabajo en un laboratorio incluyen:

1. Adiestramiento en técnicas asépticas y empleo de las mismas.
2. Prohibir pipetear con la boca.
3. No comer, beber o fumar en el laboratorio.
4. Empleo de batas y guantes protectores (que no deben emplearse fuera del laboratorio).
5. Esterilización de los desechos experimentales.
6. Empleo de gabinetes de bioseguridad.
7. Inmunización cuando se dispone de vacunas.

REACCIONES A LOS AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

El conocimiento de la naturaleza de la interacción de los virus con los componentes físicos y químicos del ambiente extracelular es importante por tres razones:

1. Como inactivar virus cuando el objetivo es eliminarlos.
2. Como preservarlo cuando el objetivo es evitar la pérdida de la infectividad.
3. El análisis de la forma de acción de reactivos específicos sobre los viriones a menudo aclara la naturaleza de las cápsides virales y de su asociación con los ácidos nucleicos.

Reactivos químicos:

Los virus son inactivados por muchos tipos de compuestos químicos. Entre ellos se encuentran los agentes oxidantes, sales de metales pesados y muchos reactivos que interactúan químicamente con las proteínas.

Detergentes:

1. Detergentes no iónicos (como Nonidet, P-40, Tritón X-100), solubilizan los componentes lipídicos de las envolturas virales, liberando así las espículas glucoproteicas y componentes internos desnaturalizados, que entonces pueden ser mejor examinados en relación a la morfología, constitución antigénica, y actividad enzimática.
2. Detergentes aniónicos, más importantes es el sulfato dodecil sodio, no sólo solubilizan las envolturas virales, sino que también disocian las cápsides en sus polipéptidos constitutivos.
3. Detergentes catiónicos, hasta ahora se ha encontrado poca aplicación en virología.

Solventes de proteínas:

La guanidina, urea y fenol son poderosos solventes de proteínas que se usan ampliamente para disociar cápsides virales en sus cadenas polipépticas componentes. El fenol es el reactivo más comúnmente usado para liberar ácidos nucleicos virales.

Formaldehído:

Suprime la infectividad sin afectar en forma significativa la antigenicidad y por ende ha sido utilizado ampliamente para preparar vacunas con virus inactivados.

Éter:

La susceptibilidad al éter puede distinguir un virus que posee cubierta del que no la posee.

pH:

Los virus difieren enormemente en su resistencia a la acidez. Todos son desintegrados en condiciones alcalinas.

Agentes físicos:

Calor y frío:

Existe gran variabilidad en la termoestabilidad de los diferentes virus. En general, los virus icosaédricos tienden a ser más estables y pierden de dos a cuatro veces su infectividad durante 6 h a 37 °C. En contraste los virus envueltos son muy termolábiles, su vida media a 37 °C no es mayor de 1 h. El título de infectividad del primer grupo permanece estable por meses a 4 °C; pero los virus del último grupo deben almacenarse a -70 °C o en nitrógeno líquido y son particularmente sensibles a congelación y descongelación. La infecciosidad viral, generalmente, desaparece por calentamiento de 50 a 60 °C durante 30 min. Los virus que resisten la liofilización resisten temperaturas mayores cuando se calientan en estado seco.

La estabilidad al calor es fuertemente influida por las condiciones ambientales. Las proteínas estabilizan a todos los virus en mayor o menor medida, como lo hacen los iones de metales, especialmente Mg^{++} y Ca^{++} .

Radiaciones:

Todos los virus son inactivados por radiaciones electromagnéticas (rayos X, rayos gamma y radiaciones ultravioletas). La dosis varía para los diferentes virus. La infectividad es la propiedad más radiosensible puesto que la replicación requiere expresión de todo el contenido del genoma. Las partículas irradiadas incapaces de replicarse pueden mantener funciones específicas en las células huésped.

Inactivación fotodinámica:

Los viriones interactúan con ciertas tinturas orgánicas (colorantes vitales: rojo neutro, azul de toluidina y proflavina) de forma tal que se unen al ácido nucleico y la iluminación con luz visible los inactiva. Comúnmente se utiliza el rojo neutro para teñir la técnica de formación de placas, una vez añadido, deben protegerse los frascos de la luz porque existe el riesgo que la progenie viral se inactive e interrumpa el desarrollo de la placa.

Antibióticos y otros antibacterianos:

Los antibióticos y sulfonamidas de uso común como antibacterianos no tienen efecto sobre los virus. Sin embargo, se dispone de algunos fármacos que tienen acción antiviral (Ribavirin, amantadina, acyclovir, etc.).

Métodos comunes para inactivar virus con diferentes propósitos:

Los virus pueden inactivarse con diferentes propósitos: desinfectar superficies o piel, esterilizar instrumentos de laboratorios, asegurar la pureza del agua, producir vacunas a base de inactivación del virus, y producción de reactivos biológicos para el diagnóstico en el laboratorio. Con estas razones se emplean diferentes métodos y sustancias químicas:

1. Esterilización, vapor a presión, calor seco, cloruro de etileno, y radiaciones.
2. Desinfección de superficie: hipoclorito de sodio, glutaraldehído, formaldehído, ácido peracético.
3. Desinfección de piel: clorhexidina, etanol al 70 %, yodóforos.
4. Producción de biológicos: formaldehído, β -propiolactona, psoraleno + irradiación ultravioleta, detergentes, calor $56^\circ C$ durante 30 min.

REPLICACIÓN DE LOS VIRUS

Los virus solo se multiplican en células vivientes. Las células huésped deberán proporcionar la energía y la maquinaria de síntesis, también los precursores de bajo peso molecular para la síntesis de las proteínas virales y de los ácidos nucleicos. El ácido nucleico viral transporta la especificidad genética para cifrar las macromoléculas específicas virales en una forma altamente organizada. En algunos casos, tan pronto como el ácido nucleico viral penetra a la célula huésped, el metabolismo celular es re canalizado exclusivamente hacia la síntesis de nuevas partículas virales. En otros casos, los procesos metabólicos de la célula huésped no se alteran significativamente, aunque la célula sintetiza proteínas virales y ácidos nucleicos. Durante el proceso de replicación deben cumplirse los siguientes pasos o etapas:

1. Adsorción: el virus se une a la membrana celular, a nivel de los llamados receptores, o sea, componentes de la membrana celular que tienen relación fisicoquímica con los virus.
2. Penetración: se lleva a cabo por uno de los siguientes procedimientos: por fusión o por endocitosis, también llamada viropexis. En la primera, el virus se fusiona con los componentes de la membrana (profusión). Este mecanismo es empleado por los virus con envoltura. La viropexis consiste en la formación de una vacuola a consecuencia de una fagocitosis que engloba al virus y lo penetra a la célula, mecanismo usado por los virus sin envoltura.
3. Período de latencia o eclipse: recibe este nombre porque al penetrar el virus a la célula desaparece toda huella del mismo. Lo que sucede en esta etapa es la decapsidación del

- ácido nucleico que se incorpora al genoma celular, y se apodera de la maquinaria celular dirigiendo a partir de ese momento la síntesis de nuevos virus.
4. Maduración y síntesis: se sintetizan proteínas virales que participan en la replicación de los ácidos nucleicos y la formación de las nuevas nucleocápsides. Se ensamblan los diferentes componentes; se constituyen así los nuevos virus, que permanecen en el seno de la célula durante algún tiempo, y se puede observar al microorganismo, en ocasiones, como cuerpo de inclusión.
 5. Liberación: algunos virus pasan largo tiempo en la célula infectada, aparentemente sin causarle daño. Otros se liberan de la célula en poco tiempo, lo cual llevan a cabo por dos procedimientos: la lisis celular, o sea, la destrucción de ésta o por medio de exocitosis, por medio de la cual el virus atraviesa la membrana celular en sitios codificados por el virus provocando una evaginación. El virus arrastra entonces componentes de la membrana celular que constituirán la envoltura viral o peplos.

De acuerdo con la replicación los virus se clasifican en clases: la *clase I* son virus que poseen un genoma con ADN de dos filamentos, que actúa como molde para la síntesis de nuevo ADN y para transcribir ARNm, para la síntesis proteica de cápside y enzima. La *clase II* posee genoma con ADN de una cadena y requiere de duplicación conservadora y semiconservadora del ácido nucleico. La *clase III* posee genoma con ARN de dos cadenas y solo se transcribe un filamento del genoma inicial y parte de los filamentos recién sintetizados funcionan como ARNm. La *clase IV* integra virus ARN de un filamento y el genoma viral puede actuar como ARNm. En la *clase V* el genoma es ARN de un filamento de polaridad negativa, este se transcribe a ARN positivo, el cual funciona como mensajero. En la *clase VI* los virus tienen genoma de ARN de un filamento a híbridos de ARN-ADN y se duplican a través de un híbrido.

GENÉTICA VIRAL

El análisis genético es una técnica poderosa para entender la estructura y función del genoma viral, los productos de sus genes, función en la infección y la enfermedad, así como de posibles tratamientos.

Se conoce como mutación a un cambio que se produce en la información codificada en el ácido nucleico, puede ser espontánea o inducida. La primera se produce igual que en los microorganismos, cada millón de generaciones aproximadamente. La segunda se produce por acción de agentes físicos (luz ultravioleta, rayos X) y químicos (5-bromodeoxiuridina, hidroxilamina, etc.). Las mutaciones pueden ser cambios en la secuencia de los polinucleótidos del genoma, cambios que pueden ser de 3 tipos:

1. Redisposición.
2. Duplicación.
3. Supresión.

La redisposición consiste en el cambio de orden en el polinucleótido: al cambiarse el orden de las bases, la información cambia.

La duplicación se produce como consecuencia de la formación de un número mayor de bases que el normal.

La supresión consiste en la disminución en el número normal de ellas.

Las mutaciones pueden ser negativas o positivas. Las primeras traen como consecuencia la muerte del organismo. Las positivas son compatibles con la vida y podrán ser transmitidas a la descendencia. Las negativas también se conocen como abortivas, y las positivas como productivas.

Las alteraciones genéticas que se producen en los virus por mutaciones son: la recombinación. La complementación, la mezcla fenotípica, la poliploidia y la interferencia.

La recombinación se produce cuando dos virus presentes en una misma célula intercambian su material genético, dando lugar a un híbrido que tiene dos tipos de genes.

La hibridación de virus obtenida en el laboratorio ha dado lugar a la información de hibridomas con diferentes características funcionales, nueva actividad

inmunológica e incluso nueva actividad patológica. La recombinación genética puede dar lugar a la formación de nuevos virus, como sucede en el caso de la influenza o a la integración del ADN al ADN celular llevando esta a la malignidad.

La complementación es la codificación por el virus de una proteína necesaria para otro virus (virus defectuoso). Por ejemplo, el virus adenoasociado (defectuoso) en presencia de adenovirus (auxiliar). Cuando un virus tiene un genoma o una cápside diferente (perteneciente a otro), el fenómeno se conoce como mezcla fenotípica. Se conocen dos tipos de mezcla: por transcapsidación, cuando se intercambian cápsides entre dos virus y en mosaico cuando se mezclan capsómeros de un tipo en otro.

Poliploidismo: es la presencia de más de un genoma en un solo virus. Cuando los genomas pertenecen a virus diferentes, se habla de un heteropolidismo.

La interferencia consiste en la incapacidad de un virus de replicarse en una célula que ya había sido infectada por otro virus, no necesariamente relacionado; se debe esencialmente a la presencia de interferón en la célula.

La reactividad cruzada incorpora parte de un genoma de virus inactivo en un virus activo, esto ocurre entre virus activos e inactivos de la misma especie, pero que presentan diferencias genéticas.

La reactivación múltiple se presenta en infecciones mixtas, entre partículas de un virus inactivado, en regiones diferentes del genoma, esto se ha observado en virus inactivados que interactúan y producen uno activado.

La transformación es un fenómeno de recombinación entre un virus activo y el genoma de una célula huésped; las consecuencias pueden ser que no se manifiesten, lo que se conoce como información muda, o que de lugar a una transformación maligna de las células.

Los bacteriófagos o fagos son virus que parasitan bacterias. Su descubrimiento constituyó un gran avance en la microbiología y la virología, al permitir estudiar y analizar diversos comportamientos biológicos. Uno de los aspectos interesantes de los fagos lo constituyen sus *ciclos líticos y lisogénicos*.

Ciclo lisogénico. El fago se fija a la bacteria, le inyecta el ácido nucleico que se incorpora al genoma bacteriano (fase de profago) transformando en sus funciones a la bacteria. Esta se reproduce normalmente, y cada bacteria de la nueva generación es portadora de la información genética entregada originalmente por el fago.

Ciclo lítico. Después de múltiples generaciones de bacterias lisogénicas, el profago se convierte en fago vegetativo. Se sintetizan nuevos fagos en la bacteria, la cual se lisa y los deja en libertad con capacidad para infectar otras células bacterianas.

Cuando el fago está incorporado al cromosoma bacteriano, recibe el nombre de *fago temperado*. Entre las informaciones genéticas proporcionadas por este, se encuentran la capacidad de producir toxinas y de resistir a los antimicrobianos.

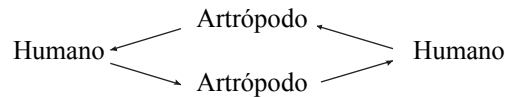
HISTORIA NATURAL (ECOLOGÍA) Y MODO DE TRANSMISIÓN DE LOS VIRUS

La ecología es el estudio de las interacciones entre los organismos vivos y su entorno. Los diferentes virus han desarrollado mecanismos ingeniosos y con frecuencias complicadas para sobrevivir en la naturaleza y transmitirse de un huésped al siguiente.

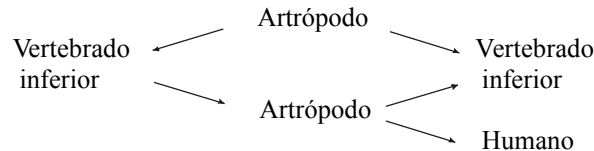
Los virus pueden ser transmitidos en las siguientes formas:

1. Transmisión directa de una persona a otra. El principal medio de transmisión puede ser por gotitas o aerosoles infectantes (por ejemplo influenza, sarampión); por vía fecal oral (enterovirus, hepatitis infecciosa A); por contacto sexual (virus de la inmunodeficiencia humana [VIH], hepatitis B); por contacto mano-boca, mano-ojo, o boca-boca (herpes simple, virus *Epstein-Barr*, enterovirus 70); por intercambio de sangre contaminada (VIH, hepatitis B); por vía transplacentaria (VIH, hepatitis B).
2. Transmisión de un animal a otro con el ser humano como huésped accidental. La transmisión puede ser por mordedura (rabia) o por aerosol infectantes en sitios contaminados (arenavirus, hantavirus)
3. Transmisión por medio de un vector artrópodo (flavivirus, togavirus). Al menos se han reconocido tres diferentes patrones de transmisión de los virus por artrópodos:

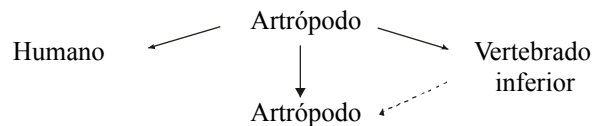
1. Ciclo humano-artrópodo: ejemplo dengue, fiebre amarilla urbana:



2. Ciclo vertebrado inferior-artrópodo con infección colateral al hombre: ejemplo: fiebre amarilla selvática, encefalitis San Luis.



3. Ciclo artrópodo-artrópodo con infección ocasional de humanos y vertebrados inferiores: Ejemplo: fiebre de Colorado por garrapata, encefalitis de LaCrosse.



En este ciclo(3) el virus se puede transmitir del artrópodo adulto a su prole por intermedio del huevo (transmisión transovárica), así el ciclo puede continuar con o sin intervención de un huésped vertebrado.

En los vertebrados, la invasión de la mayoría de los virus provoca una reacción violenta, generalmente, de corta duración. El resultado es decisivo: o bien el huésped sucumbe, o bien sobrevive por la producción de anticuerpos que neutralizan o matan al virus.

Independientemente del resultado final, la permanencia del virus activo es, generalmente, corta (aunque pueden ocurrir infecciones virales latentes tales como herpesvirus, adenovirus). Las relaciones son muy diferentes entre los vectores artrópodos y los virus, éstos pueden producir poco o ningún efecto patológico, y permanecer activos en el artrópodo durante su vida natural; actúan como huéspedes permanentes y receptáculos.

RESUMEN

Los virus son los agentes infecciosos más pequeños (varían de 20 a 300 nm de diámetro aproximadamente) y solo contienen un tipo de ácido nucleico (ARN o ADN) como genoma. El ácido nucleico está recubierto y protegido por la cápsida, estructura formada por capsómeros y algunos presentan una envoltura de lipoproteínas. La unidad infecciosa íntegra se denomina virión. Este se autoduplica solo en células vivientes. El ácido nucleico contiene la información para programar a la célula huésped infectada y sintetizar ácido nucleico y proteína viral. La infección por el virus puede tener efecto escaso o nulo sobre la célula del huésped o provocar daño o muerte celular.

Las bases de la clasificación son:

1. Morfología del virión.
2. Propiedades fisicoquímicas del virión.
3. Propiedades del genoma del virus.
4. Propiedades de las proteínas del virus.
5. Organización y replicación del genoma.
6. Propiedades antigénicas.
7. Propiedades biológicas.

Virus que contienen ADN: Parvovirus, papovavirus, adenovirus, herpesvirus, poxvirus y hepadnavirus.

Virus que contienen ARN: Togavirus, flavivirus, arenavirus, calicivirus, reovirus, retrovirus, bunyavirus, ortomixovirus, paramixovirus, rabdovirus, y filovirus.

La arquitectura viral se puede agrupar en tres tipos con base en el arreglo de las subunidades morfológicas:

1. Con simetría cúbica, por ejemplo, adenovirus.
2. Con simetría helicoidal, como ortomixovirus.
3. Con estructura compleja, por ejemplo, poxvirus.

Para determinar el tamaño de los virus y sus componentes se emplean los métodos siguientes:

1. Observación directa con el microscopio electrónico.
2. Filtración a través de membranas con poros graduados.
3. Sedimentación en la ultracentrífuga.
4. Mediciones comparativas.

Composición química de los virus:

1. Proteínas virales.
2. Ácido nucleico viral.
3. Envoltura lipídica de los virus.
4. Glucoproteínas virales.

En el laboratorio la multiplicación de un virus se puede detectar de varias maneras:

A. En cultivo celular:

1. Desarrollo de efectos citopáticos.
2. Aspecto de la proteína codificada por el virus.
3. Adsorción de eritrocitos a las células infectadas.
4. Interferencia de un virus.
5. Transformación morfológica por un virus oncógeno.
6. El crecimiento del virus en un embrión de pollo.

B. Formación de cuerpos de inclusión.

C. Daños a los cromosomas.

Cuantificación de los virus:

1. Métodos físicos.
2. Métodos biológicos

Reacciones a los agentes físicos y químicos:

Reactivos químicos: detergentes; solventes de proteínas; formaldehído; éter; pH.

Agentes físicos: calor y frío; radiaciones; inactivación fotodinámica.

Replicación de los virus: los virus solo se multiplican en células vivientes. Durante el proceso de replicación deben cumplirse los siguientes pasos o etapas:

1. Adsorción.
2. Penetración.
3. Período de latencia o eclipse.
4. Maduración y síntesis.
5. Liberación.

Genética viral: se estudian una serie de cambios que explican fenómenos patológicos y proporcional información para el manejo de enfermedades virales y la elaboración de vacunas antivirales. Los virus sufren variaciones genotípicas producidas por los fenómenos de la mutación o la recombinación. Las mutaciones son cambios en la secuencia de polinucleótidos del genoma viral que se producen por redistribución, duplicación y supresión. La recombinación genética viral se da como fenómeno de interacción de dos virus relacionados y puede ser de tipo intramolecular cuando el genoma de los virus no está fragmentado, o reagrupamiento de segmentos genómicos cuando el genoma viral está fragmentado.

Historia natural (ecología) y modo de transmisión de los virus: la ecología es el estudio de las interacciones entre los organismos vivientes y su entorno. Los virus pueden ser transmitidos en las siguientes formas:

1. Transmisión directa de una persona a otra.
2. Transmisión de un animal a otro con el ser humano como huésped accidental.
3. Transmisión por medio de un vector artrópodo. Al menos se han reconocido tres diferentes patrones de transmisión de los virus por artrópodos:
 - a) Ciclo humano-artrópodo.
 - b) Ciclo vertebrado inferior-artrópodo con infección colateral al hombre.
 - c) Ciclo artrópodo-artrópodo con infección ocasional de humanos y vertebrados inferiores.

BIBLIOGRAFÍA

- Balayan M, Mas P. Nociones de virología general. La Habana: Ed. Ciencia y Técnica, 1970.
- Brooks GF, Butel JF, Morse SA. eds. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 16ª ed. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1999: 397.
- Dress O. Inactivación de desinfección de los virus. En: Haas R, Vivel O, eds. Infecciones Humanas por Virus y Rickettsias. Ed. Barcelona: Editorial Científico-Médico, 1968: 243 -71.
- Frobisher M. Microbiología. 4ª ed. Barcelona: Salvat, 1969: 226-80.
- Jolik WK. Naturaleza, aislamiento y medición de virus animales. En: Jolik WK, Willett HP, Amos B. eds. Microbiología Zinsser. ed. La Habana: Editorial Científico Técnica; 1983: 898 - 910.
- Jolik WK. Estructura, componentes y clasificación de los virus. En: Jolik WK, Willett HP, Amos B eds. Microbiología Zinsser. Ed. La Habana: Editorial Científico Técnica; 1983: 911-56.
- Jolik WK. Inactivación de virus. En: Jolik WK, Willett HP, Amos B, eds. Microbiología Zinsser. Ed. La Habana: Editorial Científico Técnica, 1983: 957- 60.
- Jolik WK. Virus y proteínas virales como antígenos. En: Jolik WK, Willett HP, Amos B, eds. Microbiología Zinsser. Ed. La Habana: Editorial Científico Técnica; 1983: 961-68.
- Jolik WK. Ciclo de multiplicación viral. En: Jolik WK, Willett HP. Amos B, eds. Microbiología Zinsser. Ed. La Habana: Editorial Científico Técnica; 1983: 969-1010.
- Jolik WK. Efecto de la infección viral en la célula huésped. En: Jolik WK, Willett HP, Amos B, eds. Microbiología Zinsser. Ed. La Habana: Editorial Científico Técnica, 1983: 1011-19.
- Harrison F, Wiley DC, Skehel JJ. Virus Structure. En: Fields BM, Knipe BN, Howley PM, eds. Fields Virology. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott-Roven; 1996: 56.
- Lettmann G. Cultivo de virus y rickettsial. En: Haas R, Vivel O, eds. Infecciones Humanas por Virus y Rickettsias. Ed. Barcelona: Editorial Científico-Médico, 1968: 103-39.
- Levine AJ. The origins of the virology. In: Fields BM, Knipe BN, Howley PM, eds. Fields Virology. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott-Roven, 1996: 1.
- Melnick JL. Taxonomy of Viruses. In: Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET, eds. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. 7ª ed. Washington D.C.: American Public Health Association. 1995: 161.
- Murphy FA. Virus Taxonomy. In: Fields BM, Knipe BN, Howley PM, eds. Fields Virology. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott- Roven, 1996: 15.
- Pringle CR. Editorial-Virus Nomenclatura. Arch Virol 1999; 144-7.
- Pringle CR. Virus Taxonomy 1999. The Universal System of Virus Taxonomy, updated to include the new proposal ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses during 1998. Arch Virol 1999;1449-59.
- Roizman B, Palese P. Multiplication of Virus: On Overview. En: Fields BM, Knipe BN, Howley PM, eds. Fields Virology. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott-Roven; 1996: 101.
- Rott R. Generalidades sobre virus y rickettsias. En: Hass R, Vivel O. eds. Infecciones Humanas por Virus y Rickettsias. Barcelona: Editorial Científico-Médica, 1968: 1-28.
- Strauss EG, Strauss JH, Levine AJ. Virus Evolution. In: Fields BM, Knipe BN, Howley PM, eds. Fields Virology. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott-Roven, 1996: 153.
- Schlumberger HD. Caracterización de los virus por métodos físicos y químicos. En: Hass R, Vivel O. eds. Infecciones Humanas por Virus y Rickettsias. Barcelona: Editorial Científico-Médica, 1968: 103-39.
- Van Regenmortel MHV, Bishop DHL, Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Calisher CH. Guidelines to the demarcation of virus species. Arch Virol, 1997: 142-7
- Wecker E. Ácidos nucleicos infectantes de los virus. En: Hass R, Vivel O. eds. Infecciones Humanas por Virus y Rickettsias. Barcelona: Editorial Científico-Médica, 1968: 141-74.



Patogenia y control de las enfermedades virales

Patricia Jiménez López

PRINCIPIOS Y CONCEPTOS BÁSICOS EN LAS INFECCIONES VIRALES

La *patogénesis viral* puede definirse como el método por el cual los virus producen enfermedad al organismo que infectan. En la infección viral, los eventos que se desencadenan en la célula hospedera están determinados, fundamentalmente, por la expresión del ciclo replicativo (parcial o completo) del virus en la misma. Muchos de los conocimientos que hoy se tienen acerca de la patogenia viral están basados en estudios experimentales usando modelos animales de infecciones naturales humanas.

Es esencial reconocer que la producción de enfermedad es un hecho relativamente inusual en la infección por virus. La respuesta celular a esta infección puede variar desde una citopatología con muerte celular, o hiperplasia, o transformación, hasta una ausencia de efecto aparente. De ahí el concepto de *iceberg de la infección* que no es más que la correlación de los efectos celulares de la infección viral con las manifestaciones clínicas que los mismos producen a nivel del organismo hospedero. En el ápice del *iceberg* se incluirán solo aquellas respuestas celulares al daño causado por el virus tales que se traduzcan en enfermedad grave y muerte del organismo infectado.

La enfermedad consiste en una asociación de síntomas y signos en el huésped que llegan a conformar uno o más síndromes clínicos. Cuando la infección viral no lleva a la producción de síntomas se dice que es inaparente o subclínica.

Existen más de 300 virus que infectan al ser humano y son más de 50 los síndromes clínicos que producen.

Los siguientes principios son de vital importancia para el estudio de las enfermedades virales:

1. La mayoría de las infecciones virales son subclínicas.
2. Un mismo virus puede producir varias enfermedades.
3. Una misma enfermedad puede ser producida por varios virus.
4. La enfermedad que se produce no guarda relación con la morfología del virus infectante.
5. El resultado de la infección estará determinado en cada caso por las condiciones genéticas particulares del huésped y del virus.

La capacidad de un virus, comparada con la de otros cercanamente relacionados con este, de producir enfermedad en el organismo hospedero se conoce como *virulencia*. Así, una cepa de determinado virus será más virulenta que otra si desencadena una enfermedad más grave en un huésped para el cual ambas cepas son patógenas. La virulencia en un organismo animal no debe confundirse con la citopatogenicidad en células de cultivo, pues hay virus altamente citocidas *in vitro* que son totalmente inofensivos *in vivo* y viceversa.

Desde el punto de vista clínico se citan dos categorías generales de enfermedad viral aguda: *local* y *sistémica*, cuya comparación se muestra en el Cuadro 55.1.

Cuadro 55.1. Categorías de la infección viral aguda y sus principales características

	Infección local	Infección sistémica
Ejemplo de enfermedad	IRA alta (virus parainfluenza)	Poliomielitis (poliovirus)
Sitio de la patología	A nivel de la puerta de entrada	Distante de la puerta de entrada y del ciclo de replicación primaria
Período de incubación	Relativamente breve	Relativamente prolongado
Viremia	Ausente	Presente
Duración de la inmunidad	Variable (puede ser breve)	Generalmente para toda la vida
Importancia de los Acs IgA en la resistencia a la infección	Alta	Variable

PATOGÉNESIS DE LAS ENFERMEDADES VIRALES

La secuencia de eventos por los cuales los virus causan enfermedad, va desde el contacto de estos con células susceptibles hasta el deterioro de las funciones celulares por las alteraciones que entraña la replicación viral.

Se trata de un fenómeno complejo a nivel molecular, sobre lo que aún se ignoran muchos detalles, pero estudios genéticos y bioquímicos se dirigen constantemente para ayudar a entender la patogenia viral de modo que llegue a disponerse de estrategias antivirales más eficaces y específicas.

FASES DE LA INFECCIÓN VIRAL

No obstante la gran variabilidad de tipos de virus y hospederos susceptibles, hay aspectos y estrategias comunes que conforman lo que ha sido convenientemente considerado como fases o etapas de la interacción virus-huésped (Cuadro 55.2). A continuación nos referiremos fundamentalmente a la secuencia de eventos que se producen en el organismo infectado por un virus, por cuanto los procesos que a nivel celular entraña esta interacción fueron tratados en el Capítulo 54.

Cuadro 55.2. Etapas de la interacción virus-huésped

Animal	Célula
Entrada al hospedero	Unión
Replicación primaria	Penetración
Propagación viral	Pérdida de la cápside
Tropismo celular y tisular	Transcripción
Respuesta inmune	Traducción
Replicación secundaria	Replicación
Daño celular	Ensamblaje
Persistencia	Liberación

ENTRADA Y REPLICACIÓN PRIMARIA

Se inicia con el contacto del virus con el huésped en algunas de las superficies corporales: piel, mucosas de los aparatos respiratorios, gastrointestinal, y urogenital, o conjuntiva.

Algunos virus (Fig 55. 1) son introducidos directamente al torrente sanguíneo por inyección (agujas infectadas, transfusión de sangre o hemoderivados, picaduras de insectos o mordeduras), transplacentariamente, o por trasplante de órganos (Cuadro 55.3).

Generalmente, los virus se replican en el sitio primario de entrada y de ellos, algunos producen enfermedad localizada a ese nivel sin necesidad de diseminación sistémica adicional.

Para que un virus infecte un tejido, deben estar presentes los receptores (más o menos específicos) de la superficie celular capaces de interactuar con uno o más elementos de la superficie viral que garanticen la unión virus-célula y que determinarán la penetración de la partícula viral al citoplasma y el inicio del ciclo replicativo del virus con mayor o menor participación de la maquinaria celular en función de este proceso (Cuadro 55. 4).

PROPAGACIÓN VIRAL Y TROPISMO CELULAR

Muchos virus producen enfermedad en sitios distantes del punto de entrada, diseminándose dentro del huésped por distintos mecanismos, pero las rutas de propagación más comunes son la sanguínea y la linfática (Fig. 55. 2).

La presencia de virus en la sangre se denomina *viremia*. Los viriones pueden permanecer libres en el plasma (por ejemplo: *enterovirus*, *togavirus*) o estar asociados a algún tipo particular de célula, la cual puede también resultar infectada. En muchas infecciones virales la fase virémica es breve.

En algunos virus como los de la rabia, el herpes simple y la polio, ocurren diseminación neuronal hasta alcanzar estructuras nerviosas centrales donde provocarán enfermedad o iniciarán una infección latente.

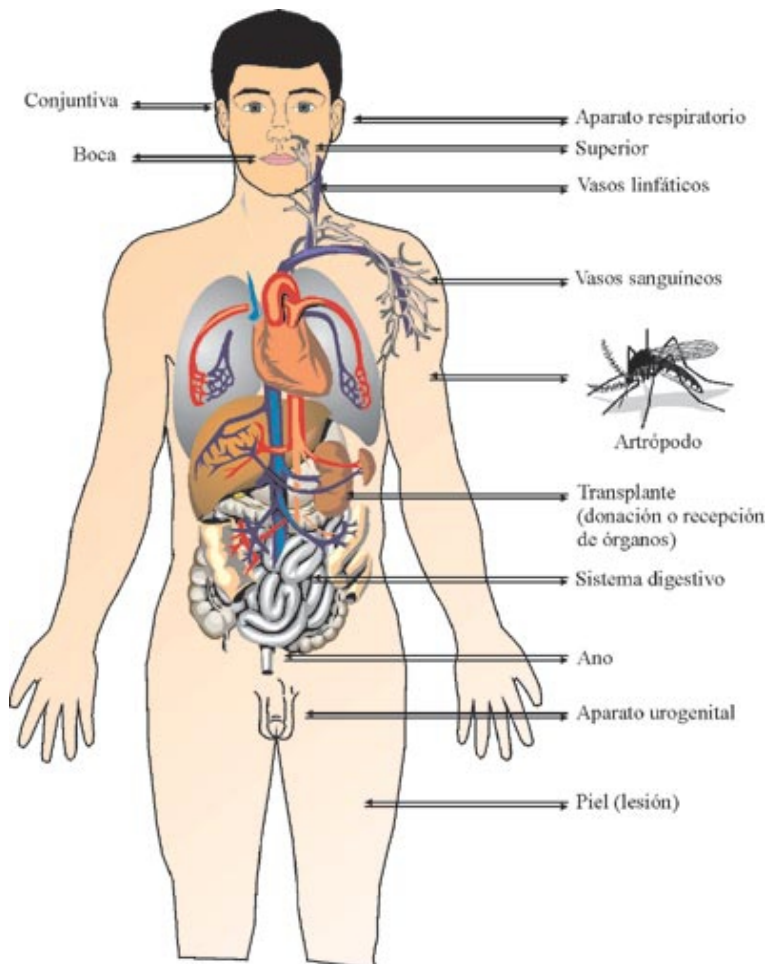


Figura 55.1. Principales puertas de entrada y salida en la infección viral.

Cuadro 55. 3. Principales vías de transmisión en las infecciones virales

Puerta de entrada		Grupo de virus	Producen síntomas locales en la puerta de entrada	Producen infección generalizada además enfermedad en órganos específicos
Vías respiratorias		Adenovirus	La mayor parte de los tipos Virus <i>Epstein-Barr</i> (EBV)*, virus Herpes simple (HSV)*	Virus de la varicela (VZV), herpesvirus 6 (exantema súbito) y 7 Virus de la viruela (erradicado)
		Herpesvirus		
		Poxvirus	Rinovirus	Algunos enterovirus Virus de la rubéola
		Picornavirus		
		Togavirus	Virus de la influenza* Virus Parainfluenza, virus Sincitial respiratorio (VSR)	Virus de la parotiditis**, virus del sarampión
		Ortomixovirus		
Paramixovirus				
Piel	Traumatismo leve	Coronavirus	La mayor parte de los tipos Papillomavirus HSV* Virus del molusco contagioso	
		Papovirus		
		Herpesvirus		
		Poxvirus		
		Herpesvirus		
	Inyección	Hepadnavirus	EBV, CMV HBV HCV y virus de la hepatitis G (HGV) Virus de la hepatitis D (HDV) (sobreinfección o coinfección con HBV) HIV	
		Flavivirus		
		No clasificado (Deltavirus)		
		Retrovirus		
		Adenovirus		
Vías digestivas		Herpesvirus	Algunos tipos EBV*, HSV *	Citomegalovirus (CMV) Algunos enterovirus (incluye poliovirus), HAV
		Picornavirus		
		Reovirus		
Vía sexual		Calicivirus	Rotavirus	Virus de la hepatitis E (HEV) CMV, Herpesvirus 8 (Sarcoma de Kaposi)
		Herpesvirus		
		Papillomavirus	Algunos tipos	
		Hepadnavirus		
		Hepadnavirus		
		Flavivirus		
		Retrovirus		
Picadura o mordedura		No clasificado	Algunos tipos	Virus de la hepatitis B (HBV) Virus de la hepatitis C (HCV) Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) SEN-V*** (Hepatitis viral) Virus de la rabia**
		Rabdovirus		
		Togavirus		
		Flavivirus		
		Bunyavirus		
		Arenavirus		

* Virus que además de síntomas locales en la puerta de entrada pueden producir enfermedad sistémica.

** Virus que además de enfermedad sistémica pueden producir síntomas locales en la puerta de entrada.

*** Virus de reciente descubrimiento (1998). Agente causal de hepatitis viral de posible transmisión parenteral.

Cuadro 55. 4. Receptores propuestos en la unión virus-célula

Familia	Virus	Posible receptor celular
<i>Adenoviridae</i>	Adenovirus tipo 2	Integrina $\alpha_3\beta_3$ y $\alpha_5\beta_5$
<i>Coronaviridae</i>	Coronavirus respiratorio humano (HCV-OC43)	Residuos de ácido siálico
<i>Herpesviridae</i>	EBV	CD21 (receptor para CR2)
	HSV	Herapin-sulfato
	CMV	Herapin-sulfato, β_2 microglobulina/MHC-I
<i>Ortomixoviridae</i>	Virus influenza A y B	Residuos de ácido siálico
<i>Paramixoviridae</i>	Virus del sarampión	CD46
<i>Parvoviridae</i>	Parvovirus B19	AgP de eritrocitos
<i>Picornaviridae</i>	Poliovirus	PVR (superfamilia de las IgG)
	Rinovirus	ICAM-1
	Echovirus 1, 8	Integrina VLA-2 ($\alpha_2\beta_1$)
<i>Poxviridae</i>	Vaccinia	Receptor para EGF
<i>Reoviridae</i>	Reovirus T3 ₃	Residuos de ácido siálico, receptor para EGF
	Rotavirus	Gangliósidos, ácido siálico
<i>Retroviridae</i>	HIV-1	CD4, galactosilceramida
<i>Rhabdoviridae</i>	Virus rábico	Receptor para acetil colina, gangliósidos, fosfolípidos
<i>Togaviridae</i>	Semliki Forest	HLA H ₂ -K, H ₂ -D

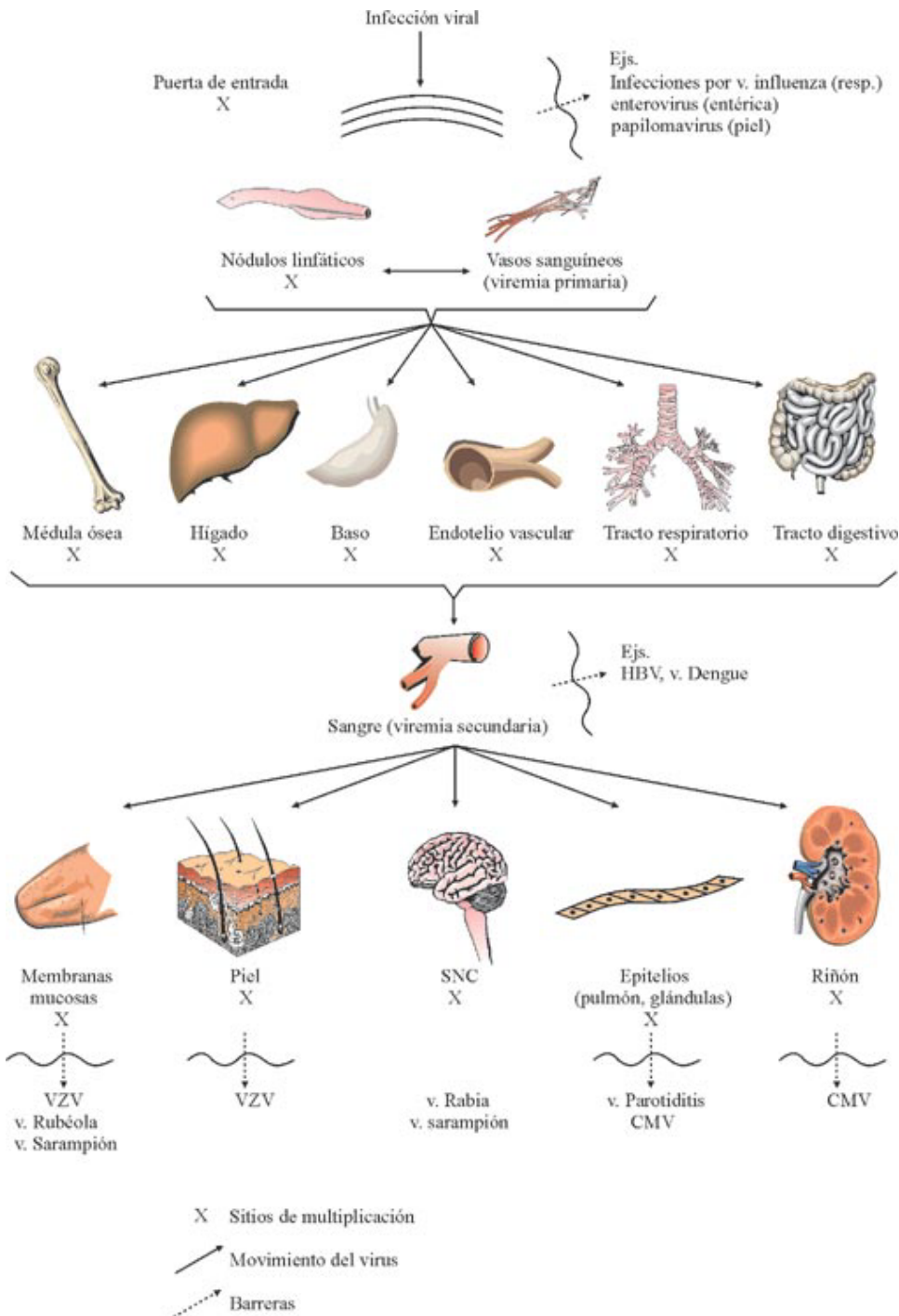


Figura 55.2. Mecanismos de propagación de los virus en el hospedero, sitios de multiplicación primaria y secundaria, y vías de transmisión a susceptibles.

Los virus tienden a presentar especificidad para órganos y células, lo cual es conocido como *tropismo tisular*, y es, generalmente, un reflejo de la presencia de los receptores específicos en la superficie celular para determinados virus.

La expresión génica viral puede ser afectada por diversos factores que son a su vez importantes determinantes del tropismo celular. Ejemplo de estos factores son los elementos del genoma viral que regulan la transcripción de genes virales en una célula, ya sean mejoradores o activadores de la transcripción. También la presencia de ciertas enzimas proteolíticas hará efectiva la infección por ciertos virus en las células que las posean.

A nivel celular se sintetizarán en esta etapa una serie de productos (proteínas) virales funcionales y/o estructurales que se acumularán en la célula con efecto citopatógeno o no.

LESIÓN CELULAR Y ENFERMEDAD CLÍNICA

Después que ocurre la entrada del virus a la célula, el curso de la infección celular dependerá en buena medida del completamiento o no de los ciclos replicativos virales. En general, cuando este ciclo llega a término con producción eficiente de progenie viral infectiva (*infección productiva*), puede apreciarse un efecto citopático variable (ver en Capítulo *Diagnóstico de las Enfermedades Virales*). Muchos virus pueden infectar los tejidos sin que nuevos viriones se produzcan, manteniendo sólo aquellos procesos de síntesis que garanticen su supervivencia en el medio celular (síntesis de proteínas no estructurales y factores reguladores del ciclo celular). Se dice entonces que el virus se mantiene en estado de *latencia*. La infección latente sin producción de virus, la infección crónica de la célula con eliminación continua de virus y las llamadas infecciones por virus lentos, son tres fenómenos que confieren a determinados virus la capacidad de establecer infección de larga duración *in vivo*, lo que se conoce como *persistencia viral* (Cuadro 55.5).

Cuadro 55.5. Virus que causan infección persistente

	Virus	Sitio de persistencia	Efecto clínico
ADN	Adenovirus	Adenoides, amígdalas, linfocitos	Ningún efecto conocido
	CMV	Riñón, glándulas salivales, linfocitos?, macrófagos?, células del estroma	Neumonía, retinitis
	EBV	Células epiteliales faríngeas, células B	Mononucleosis infecciosa, linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, linfoma no Hodgkin, leucoplasia vellosa de la lengua
	HSV1 y 2	Neuronas de los ganglios sensoriales	Faringitis, herpes genital, encefalitis, queratitis
	HV6	Linfocitos	Exantema súbito
	V2V	Neuronas de los ganglios sensoriales y células satélites	Varicela, herpes zoster
	HBV	Hepatocitos, linfocitos?, macrófagos?	Hepatitis, carcinoma hepatocelular
	HDV	Hepatocitos	Exacerbación de la infección crónica por HBV
	Papillomavirus	Células epiteliales de piel	Papillomas, carcinomas
	Parvovirus B19	Células progenitoras eritroides en médula ósea	Crisis aplásica en la anemia hemolítica, deficiencia crónica en médula ósea
ARN	Poliomavirus BK	Riñón	Cistitis hemorrágica
	Poliomavirus JC	Riñón, oligodendrocitos en el SNC	Leucoencefalopatía multifocal progresiva
	HCV	Hepatocitos, linfocitos?, macrófagos?	Hepatitis, carcinoma hepatocelular
RETRO	Virus del sarampión	Neuronas y células gliales del SNC	Panencefalitis esclerosante subaguda
	Virus de la rubéola	SNC	Panencefalitis progresiva por Rubéola, diabetes insulino dependiente?, artritis juvenil?
	HIV	Células T CD4, monocitos, macrófagos, microglías	SIDA
	Virus humano 1 de la Leucemia de células T (HTLV-1)	Células T	Leucemia de células T, paraparesis espástica tropical, polimiositis
	Virus humano 2 de la Leucemia de células T (HTLV-2)	Células T	Ningún efecto conocido

Existen una serie de requisitos básicos para que esto ocurra:

1. El virus debe infectar la célula sin causar efecto citopático.
2. Debe existir un mecanismo para el mantenimiento del genoma viral en la célula infectada (genoma integrado o plásmido extracromosómico).
3. Debe haber evasión de la respuesta inmune del hospedero (no expresándose las proteínas virales en la membrana de la célula infectada, estableciéndose la infección en un sitio "inmunológicamente privilegiado" como los nódulos linfáticos, contando el virus con mecanismos de escape o de supresión de la respuesta inmune). Un virus en estado de

latencia puede ser reactivado y experimentar ciclos completos de replicación con producción de progenie viral y recurrencia de síntomas y signos clínicos aún en presencia de anticuerpos. Diversos factores se invocan como influyentes en la recurrencia de los virus que infectan persistentemente al ser humano, los mismos se abordarán apropiadamente en los capítulos correspondientes a cada virosis en particular.

La infección viral es causa de *stress* celular, y bajo esta condición la célula puede derivar a la *apoptosis* o muerte celular programada. Se trata de un mecanismo fisiológico conservado a lo largo de la ontogénesis tisular y probablemente mejor estructurado en los sistemas nervioso y linfático. Se desencadena a partir de la activación de una enzima (endonucleasa dependiente de calcio) que fragmenta elADN celular, de modo que en una célula en apoptosis aparecen fragmentos condensados de cromatina nuclear. La apoptosis no está asociada a la respuesta inflamatoria. Si un virus que comúnmente causa lisis celular por apoptosis, desarrolla un mecanismo para inhibir ese proceso, infectará la célula persistentemente. Ejemplos de virus inductores de apoptosis lo constituyen el VIH, el virus *Epstein-Barr* (EBV), algunos adenovirus y *papillomavirus*. Varios tipos dentro de estos mismos grupos virales pueden actuar como inhibidores de la apoptosis e infectar persistentemente al huésped: el VIH a través de múltiples factores reguladores y transactivadores, el EBV probablemente por activación de un gen celular (*protoncogen*) cuyo producto es un inhibidor de la apoptosis, tal como lo es la proteína E₁B de algunos adenovirus y la proteína E₆ de ciertos papillomavirus.

Los efectos de la infección viral en los tejidos blanco y las alteraciones que esta lesión tisular producen en el huésped son causa parcial, pero importante de la enfermedad.

Algunos tejidos (como el epitelio intestinal) se regeneran con rapidez y soportan daño extenso mejor que otros, como el cerebro (células neuronales). En ocasiones el daño celular no es mortal, pero la función celular se afecta con alteraciones transitorias en el organismo.

La enfermedad viral muchas veces es consecuencia de efectos adversos de la respuesta inmune a la infección. Una respuesta inmune patológica no es un evento excepcional en las infecciones por virus y puede tener un gran peso en la etiopatogenia de la enfermedad en cuestión. En la fiebre hemorrágica del dengue y Síndrome de *shock* por dengue, el antecedente de una infección con uno de los cuatro serotipos de virus dengue parece condicionar la ocurrencia de un fenómeno inmunopatológico (mejoramiento de las uniones antígeno viral-receptor celular, dependiente de las concentraciones de anticuerpos heterólogos) que, junto a otros factores de orden individual, ambientales y relativos al propio virus, explica las manifestaciones clínicas que se presentan ante una infección por un serotipo distinto al que causó la infección anterior.

Otra causa de enfermedad en el curso de la infección viral es el desarrollo de autoanticuerpos. Si un antígeno viral consigue eludir la respuesta de anticuerpos y estos a su vez son capaces de reconocer un determinante antigénico en alguna proteína celular de un tejido normal, se producirá daño celular y/o pérdida de funciones que no está directamente relacionada con la acción del virus en la célula.

Muchas veces no es posible identificar un mecanismo fisiopatogénico específico asociable a cada síntoma o signo. Sobre todo para los síntomas generales que acompañan a muchas infecciones virales como malestar y anorexia, no hay explicación.

RECUPERACIÓN DE LA INFECCIÓN

Tras una infección viral en la que el huésped desarrolla enfermedad clínicamente manifiesta, el mismo puede morir o recuperarse total o parcialmente. En este sentido la función fundamental lo desempeña el sistema inmunitario a través de una serie de complejas respuestas inespecíficas y específicas donde participan barreras físicas corporales, células, anticuerpos, interferones, citocinas y, probablemente, otros factores de defensa hospedera, todo ello en dependencia del virus y la enfermedad particulares.

Generalmente, la respuesta inmune específica conduce al aclaramiento y eliminación de virus con recuperación de la infección aguda. Sin embargo, el huésped a veces resulta persistentemente infectado y además algunos virus infectan y dañan las propias células del sistema inmunitario. Claro ejemplo de ello lo representa la infección por VIH de los linfocitos T colaboradores con destrucción creciente y pérdida de sus funciones.

La importancia de los factores del hospedero en la recuperación de la infección viral ha sido reiteradamente demostrada en modelos animales. Estos factores incluyen el estado inmunitario, el escenario genético individual, la edad, la nutrición y hasta condiciones ambientales específicas en el marco de la relación huésped-parásito.

TRANSMISIÓN DE LOS VIRUS

El paso final de la patogenia viral lo constituye la propagación del agente infeccioso al ambiente. De esta manera, la infección viral se mantiene en las poblaciones de huéspedes. Las mismas superficies corporales implicadas en la entrada de la infección, sirven de vías de escape de los virus al exterior (Figs. 55.1-2), según la etapa de la enfermedad y el agente etiológico.

El período de transmisibilidad comprende el tiempo durante el cual un individuo infectado es infectante para un individuo susceptible por cualquiera de las vías de contagio. Existen infecciones virales como la rabia en las que no ocurre propagación de virus a partir del individuo infectado y la enfermedad culmina con la muerte del organismo y, por tanto, del virus que lo parasitaba.

CONTROL DE LAS ENFERMEDADES VIRALES

Indudablemente, en el control de una infección vírica, los mecanismos de respuesta inmune del hospedero son un elemento esencial. Este tema se aborda ampliamente en la presente obra (ver Capítulo 56). Por otra parte, el descubrimiento de nuevas drogas antivirales y de candidatos vacunales cada vez más eficaces, así como el desarrollo de Programas de Control Sanitario, son metas de primer orden hacia las que avanzan miles de investigadores y, en general, todo el personal vinculado a la salud.

QUIMIOTERAPIA ANTIVIRAL

A partir del avance de la *virología molecular* han llegado a identificarse funciones específicas del virus que pueden servir como blancos para la inhibición de los efectos que el mismo ocasiona en la célula. Teóricamente, cualquier etapa del ciclo replicativo viral puede ser diana de la terapéutica antiviral. El medicamento ideal de acción antiviral sería aquel que interrumpiera la replicación del virus en un paso específico y esencial sin afectación significativa del metabolismo normal de la célula infectada.

Una de las grandes paradojas de la medicina es el hecho de que los organismos evolutivamente más simples son los más difíciles de controlar. Dado que los virus son organismos muy pequeños y es muy complejo su comportamiento, y ya que muchas veces los antivirales no son capaces de distinguir entre los eventos replicativos del virus y los de la célula hospedera, sólo se emplean estas drogas en un número relativamente limitado de situaciones. Por otra parte, se trata, generalmente, de productos tóxicos para el huésped.

El mecanismo de acción de las drogas antivirales es variado. El funcionamiento de estas *in vitro* no siempre significa utilidad para su aplicación *in vivo*. Con el tiempo, se originan usualmente variantes del virus resistentes al fármaco, por lo que es muy frecuente el empleo de combinaciones terapéuticas.

Ejemplos de los antivirales más ampliamente utilizados se abordan a continuación, y se resumen en el Cuadro 55.6. Los interferones son empleados con fines terapéuticos, pero se tratan ampliamente en el Capítulo 56.

Análogos de los nucleósidos

Constituyen el grupo más amplio de los antivirales disponibles. Inhiben la replicación del ácido nucleico viral por inhibición de enzimas en las vías metabólicas de las purinas o pirimidinas, o por inhibición de la polimerasa para la replicación del ácido nucleico (Fig. 55.3).

Algunas de estas moléculas pueden incorporarse al ácido nucleico viral y bloquear mejor su síntesis o función.

El efecto de estos compuestos puede repercutir en enzimas celulares y es causa de toxicidad en el individuo bajo tratamiento.

1. Zidovudina (ácido timidina; AZT).

Análogo sintético de la timidina que bloquea la síntesis del ADN proviral, debido a una carencia de grupo OH terminal por lo que pone fin a la cadena en crecimiento al incorporarse en lugar de la timidina. La reverso-transcriptasa (RT) del virus es 100 veces más susceptible a la inhibición por la AZT que la ADN-polimerasa celular. Se emplea en el tratamiento de la infección por VIH y también es activo contra el EBV y el HBV.

Cuadro 55.6. Principales drogas antivirales

Análogo Nucleósido	Fármaco	Consumo de acción	Espectro viral
Sí	Aciclovir	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus
	Didanosina	Inhibidor de la RT	VIH-1 y 2
	Estavudina	Inhibidor de la RT	VIH-1y2
	Ganciclovir	Inhibidor de la polimerasa viral	CMV
	Lamivudina	Inhibidor de la RT	VIH-1y2, HBV
	Ribavirina	Probablemente impida el remate del ARNm viral	Virus sincitial respiratorio (SRV), influenza A y B, fiebre Lassa
	Saquinavir	Inhibidor de la proteasa del VIH	VIH-1 y 2
	Trifluridina	-	Queratitis por herpesvirus
	Valaciclovir	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus
	Vidarabina	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus, virus de la viruela bovina, HBV
	Zalcitabina	Inhibidor de la RT	VIH-1 y 2, HBV
	Zidovudina	Inhibidor de la RT	VIH-1 y 2, HBV
	No	Amantadina	Impide la pérdida de la cubierta viral
Cidofovir		Inhibidor de la polimerasa viral	CMV, HSV
Foscarnet		Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus, VIH-1, HBV
Indinavir		Inhibidor de la proteasa del VIH	VIH-1 y 2
Nevirapina		Inhibidor de la RT	VIH-1
Ritonavir		Inhibidor de la proteasa del VIH	VIH-1 y 2

2. Didanosina (didesoxinosina; ddi).

Didesoxinucleósido que es metabolizado a la forma de trifosfato de didesoxiadenosina, análogo de la adenosina que actúa bloqueando la síntesis del ADN proviral por un mecanismo similar al descrito para la AZT. Útil en el tratamiento de la infección por VIH.

3. Zalcitabina (didesoxicitocina; ddc).

Otro de los análogos nucleosídicos cuyo principio de acción es básicamente igual a los anteriormente descritos, usándose en la terapia de la infección retroviral.

4. Aciclovir (acicloguanosina).

Análogo de la guanosina o desoxiguanosina que, una vez fosforilado por una timidinkinasa celular, inhibe la ADN-polimerasa viral. Se aplica con efectividad para el tratamiento del herpes simple y la varicela zoster, y es menos útil en las infecciones por CMV y EBV.

5. Ganciclovir.

Derivado de la metilguanina, similar al aciclovir, inhibe la ADN polimerasa viral y bloquea la elongación de la cadena. Es más activo *in vitro* y también *in vivo* contra el CMV en comparación con el aciclovir, reportándose gran beneficio clínico para los pacientes transplantados con infección severa por CMV y buena respuesta en casos de retinitis por este virus.

6. Vidarabina (arabinósido de adenina).

Análogo de las purinas, con mecanismo de acción poco esclarecido, probablemente actúe por bloqueo de la síntesis del ADN viral por inhibición de la ADN polimerasa del virus. Se usa tópicamente para tratar las lesiones corneales por HSV y parenteralmente en las infecciones por HSV y VZV.

7. Idoxuridina (desoxuridina).

Pirimidina halogenada que inhibe la timidin-kinasa y se incorpora al ADN viral. Se usa solo tópicamente con igual indicación que la vidarabina, y no en infecciones sistémicas dada su toxicidad pues inhibe también la síntesis del ADN celular.

8. Trifluridina

Empleado satisfactoriamente de manera tópica en la queratitis herpética. Efectiva contra aquellas cepas de herpesvirus resistentes a la idoxuridina.

9. Bromovinildesoxiuridina.

Muestra muchas ventajas sobre la idoxuridina, ya que es más activa, no tóxica y requiere de la fosforilación por una timidin-kinasa inducida por el virus. Es más efectiva contra el VZV que contra el HSV.

10. Citarabina (arabinósido de citosina).

Otro análogo de las pirimidinas con igual acción inhibitoria sobre la ADN polimerasa viral que sobre la celular, de ahí su toxicidad y carácter inmunosupresor que han limitado su uso.

11. Ribavirina (virazol).

Nucleósido sintético estructuralmente relacionado con la guanosina, efectivo en mayor o menor medida contra muchos virus ADN y ARN, *in vitro*. Puede que interfiera con la síntesis del ARNm viral, pero su mecanismo de acción no ha quedado aún dilucidado. Se emplea en aerosol para el tratamiento de la influenza y la infección por VSR. Estas enfermedades mejoran también su curso mediante el tratamiento por vía endovenosa, modo de administración efectivo contra la fiebre Lassa.

Análogos de los nucleótidos

Se diferencian de los análogos de los nucleósidos en la presencia de un grupo fosfato. Inhiben igualmente la ADN polimerasa viral y ponen fin al crecimiento de la cadena de ADN. Ejemplo de ellos es el cidofovir (Fig. 55.3) que es activo contra CMV y HSV, aprobándose desde 1996 para el tratamiento de la retinitis por CMV.

Inhibidores no nucleosídicos de la reverso transcriptasa (RT)

Actúan por unión directa a la RT del VIH, rompiendo el sitio catalítico de la enzima. No requieren fosforilación para su actividad y no compiten con los nucleósidos trifosfatos. Dentro de este grupo se incluyen la nevirapina (ver Fig. 55.3) y la dalavirdina, aprobados en 1996.

Inhibidores de las proteasas

Inhiben la proteasa viral, necesaria en la última etapa del ciclo replicativo del VIH para escindir las proteínas estructurales y formar el centro maduro del virión y activar la RT que participará en el siguiente ciclo de infección. Suelen emplearse en combinación con otros tipos de fármacos antiretrovirales. Pertenecen a este grupo las drogas saquinavir (1995), indinavir y ritonavir (1996). (ver Fig. 55.3).

Otros tipos de antivirales

1. Amantadina y rimantadina.

La amantadina es una amina sintética (ver Fig. 55.3) que inhibe todos los virus de la influenza A por bloqueo del desnudamiento viral. La rimantadina es un derivado de la amantadina con el mismo espectro antiviral, pero menos tóxica y con ligeros efectos secundarios.

2. Foscarnet (ácido fosfonofórmico).

Potente inhibidor de la ADN polimerasa inducida por el HSV y con muy escaso efecto sobre la ADN polimerasa celular. Aunque en menor grado, el foscarnet también inhibe las polimerasas de HBV y retrovirus. (ver Fig. 55.3).

3. Metisazona.

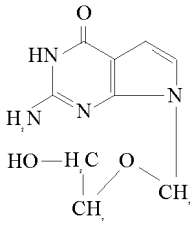
Primer agente antiviral descrito, de interés histórico como inhibidor de los poxvirus al bloquear una etapa tardía de la replicación viral de modo que se producen partículas virales inmaduras no infectantes. Es muy específica para el virus, no afectando el metabolismo de las células normales. Ya que la viruela está erradicada, este fármaco no tiene uso clínico.

Los nuevos avances en la patogénesis de las infecciones virales y en particular por VIH, han acelerado el desarrollo de drogas con novedosos mecanismos de acción. Entre ellas, los inhibidores de la fusión, los inhibidores de la integrasa y los compuestos estimuladores del sistema inmune, se aplican actualmente con fines clínicos y parecen contar con buena eficacia.

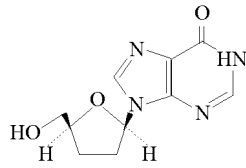
VACUNAS VIRALES

La esencia de las vacunas virales radica en la capacidad de respuesta inmune del huésped al enfrentar una infección por virus. Los antígenos virales, sobre todo los de superficie, son el blanco de esta respuesta. La inmunidad de las mucosas mediadas por anticuerpos

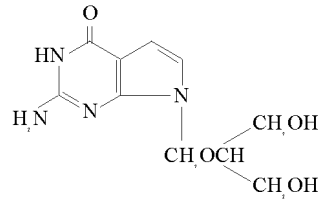
Análogos de los nucleósidos



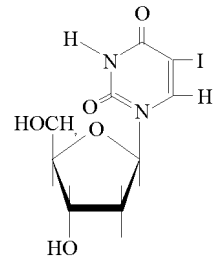
Aciclovir



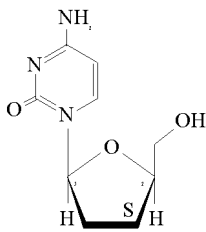
Didanosina, ddI



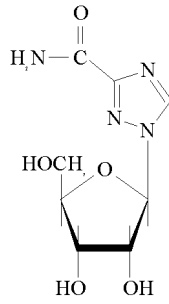
Ganciclovir



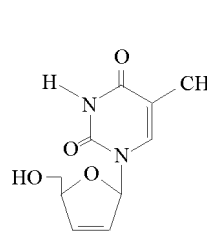
Idoxuridina



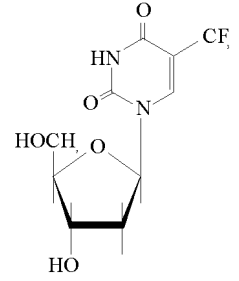
Lamivudina, 3TC



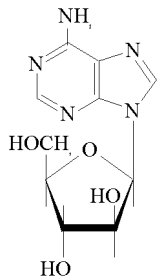
Ribavirina



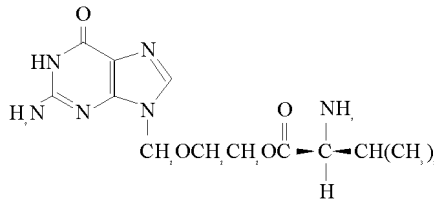
Estavudina, d4T



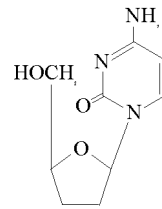
Trifluridina



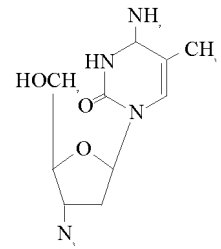
Vidarabina



Valaciclovir

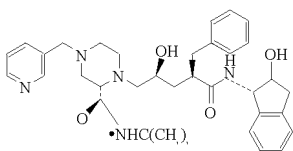


Zalcitabina, ddC

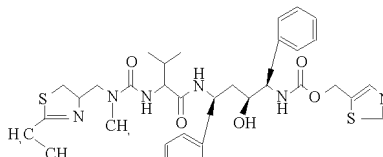


Zidovudina, AZT

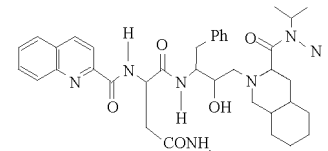
Inhibidores de Proteasa



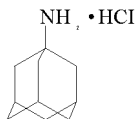
Indinavir



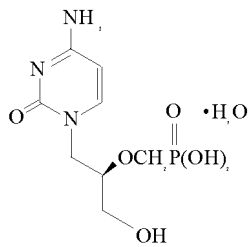
Ritonavir



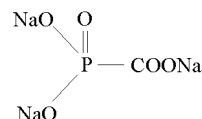
Saquinavir



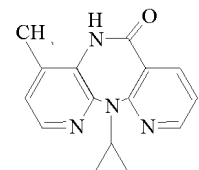
Amantadina



Cidofovir



Foscarnet



Nevirapina

Fig. 55.3. Estructura química de antivirales de uso común.

secretorios (IgA) es vital para la resistencia a la infección por virus que se replican en las mucosas (rinovirus, virus de la influenza, rotavirus, poliovirus). Los anticuerpos séricos son efectivos contra los virus que se diseminan por viremia (poliovirus, virus de la hepatitis, virus del sarampión). En las infecciones sistémicas es importante la protección mediada por células (sarampión, infección por herpesvirus).

Se dispone de vacunas para la prevención de varias enfermedades virales humanas. Las mismas se describen en detalle en los capítulos correspondientes a las familias específicas de virus y las enfermedades que estos causan. El Cuadro 55.7 resume las vacunas virales humanas de probada eficacia.

Cuadro 55.7. Vacunas virales de probada eficacia en humanos

Virus	Tipos de vacunas comúnmente usadas	Posible mecanismo de protección
Adenovirus	Virus vivo atenuado	Acs séricos y secretorios
HAV	Virus muerto	Acs séricos
HBV	Recombinante	Acs séricos
Virus de la influenza	Virus muerto, de subunidades	Difusión de Acs séricos a superficies respiratorias, células T?
Virus del sarampión	Virus vivo atenuado	Acs séricos e inmunidad celular
Virus de la parotiditis	Virus vivo atenuado	Acs séricos
Virus de la rubéola	Virus vivo atenuado	Acs séricos y secretorios
Poliovirus	Virus vivo atenuado	Acs séricos y secretorios
	Virus muerto	Acs séricos
Virus de la rabia	Virus muerto	Acs séricos
Virus de la viruela	Virus vivo atenuado	Acs séricos e inmunidad celular
VZV (varicela)	Virus vivo atenuado	Acs séricos e inmunidad celular
Virus de la fiebre amarilla	Virus vivo atenuado	Acs séricos
Virus de la encefalitis japonesa	Virus muerto	Acs séricos

La inmunidad adquirida artificialmente no solo es importante por sustituir la necesidad de un contacto natural con el agente, el cual siempre representa un riesgo para la salud y, a veces, para la vida, sino que muchas veces otorga un estado de protección que no podría obtenerse por ningún otro medio.

Determinadas características de un virus o de una enfermedad viral pueden complicar la elaboración de una vacuna eficaz. La existencia de muchos serotipos (rinovirus) o de varios reservorios animales (virus de la influenza), dificulta la producción de una vacuna. Por otra parte, la integración del ADN viral al genoma celular (retrovirus) y, en general, todos los mecanismos involucrados en la persistencia viral, son obstáculos para el diseño de una vacuna.

Incluso para el tratamiento profiláctico del cáncer, se ha propuesto el uso de vacunas. Recientemente, se logró controlar la enfermedad de Marek (un tumor linfoproliferativo común en los pollos domésticos causado por un herpesvirus) mediante una vacuna de virus vivo atenuado que produce una infección activa a lo largo de toda la vida del animal y, aunque no evita la sobreinfección con virus virulento sí protege de la aparición del tumor. Una segunda vacuna contra el cáncer se encuentra actualmente en uso: la vacuna contra la hepatitis B que previene el carcinoma hepatocelular primario en regiones con altas tasas de portadores crónicos.

Vacunas de virus muertos

Son virus inactivados por diferentes métodos (tratamiento con formalina, beta-propiolactona, radiación UV) de manera que las preparaciones virales purificadas pierdan infectividad procurando sea mínimo el daño a las proteínas estructurales virales. Para algunas enfermedades, este es el único tipo de vacuna disponible. Cuando son preparadas a partir del virión completo estimulan, generalmente, el desarrollo de anticuerpos séricos contra las proteínas de la cubierta viral, confiriendo cierto grado de resistencia. Su principal ventaja radica en que no existe posibilidad de reversión a la virulencia por el virus vacunal.

El cuidado en su fabricación ha de ser extremo para garantizar que no queden residuos de virus vivo virulento en la vacuna. Como principales desventajas se citan la brevedad de la inmunidad conferida (se deben administrar dosis de refuerzo), la protección limitada por no inducir resistencia local adecuada (IgA) en el sitio primario de multiplicación, la deficiencia de la respuesta mediada por células y los fenómenos de hipersensibilidad que frecuentemente inducen estas vacunas.

Vacunas de virus vivo atenuado

Estas vacunas utilizan mutantes virales de un virus nativo, que se superponen antigénicamente, pero que están restringidas en algún paso de la patogenia de la enfermedad. Las cepas virales atenuadas pueden ser seleccionadas naturalmente o mediante cultivo en serie (pasajes en animales o cultivo celular), pero actualmente su selección suele efectuarse por manipulaciones de laboratorio encaminadas a alterar parte de la genética viral a modo de conservar aquel carácter relacionado con la inducción de respuesta inmune efectiva y modificar lo que pudiera implicar daño patogénico en el vacunado.

Su mayor ventaja es la similitud de acción de los virus empleados con los que causarían la infección natural. Los mismos se multiplican en el huésped y tienden a estimular la producción persistente de anticuerpos secretorios y séricos, así como una respuesta celular satisfactoria. Sus desventajas estriban en el riesgo a la reversión a una mayor virulencia durante la multiplicación dentro del vacunado (cepas vacunales de poliovirus pueden revertir a la neurovirulencia por multiplicación en el tracto gastrointestinal del individuo vacunado y provocar poliomielitis paralítica asociada a la vacuna), en la posibilidad de infección latente del sustrato de cultivo por virus contaminantes que pueden penetrar en la vacuna (papovavirus SV40 y CMV simiano), en su limitada vida de almacenamiento, en la interferencia con una infección natural concurrente por otro virus que pudiera inhibir la replicación del virus de la vacuna y disminuir su eficacia, y por último, el problema potencial de que la incorporación de un virus vivo pueda producir infección persistente en el sujeto vacunado.

Otros tipos de vacunas virales

1. Vacunas recombinantes.

Los recombinantes se utilizan para expresar los antígenos virales de interés en células procariotas o eucariotas, a partir de la construcción de plásmidos que contienen los genes virales que codifican para dichos antígenos y que son introducidos en los sistemas de expresión de modo que se obtendrá el antígeno en cantidad e inmunogenicidad suficientes. En la actualidad es fácil clonar genes virales dentro de plásmidos. Recientemente se ha encaminado el uso del sistema de expresión del baculovirus en células de insectos, con genes clonados de rotavirus y de virus Norwalk. La vacuna cubana de la hepatitis B es un recombinante que expresa el antígeno de superficie del HBV (HBVAgS) en levaduras y un ejemplo de este tipo de vacuna.

2. Vacunas de péptidos sintéticos.

Es posible sintetizar péptidos cortos que correspondan a determinantes antigénicos de una proteína viral. Mediante la síntesis química se excluye la exposición del vacunado al ácido nucleico viral evitándose así toda posibilidad de que el virus recupere la virulencia y el problema de contaminación con las proteínas celulares. No obstante, no es fácil identificar la secuencia de péptidos capaz de inducir una respuesta inmunitaria protectora sobre todo si se trata de determinantes conformacionales. De otro lado, la respuesta inducida por péptidos sintéticos es mucho más débil que la inducida por la proteína intacta o por el virus. En Cuba se ensaya una vacuna de este tipo para la prevención de la infección por VIH.

3. Vacunas de subunidades.

Se pueden obtener componentes subvirales para incluir en la vacuna solo aquellos antígenos necesarios para inducir anticuerpos protectores. Se lleva a cabo fragmentando el virión y con modernos procedimientos de purificación que reducen la posibilidad de reacciones adversas a la vacuna, al tiempo que se administra un material más concentrado y con cantidades mucho mayores del antígeno específico deseado.

4. Vacunas de ADN.

Contienen el gen o los genes que codifican para la porción antigénica del virus. La célula hospedera incorpora el ADN extraño y lo traduce dentro de sí, por lo que la proteína viral sigue la ruta de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHC-I) y llevan los fragmentos del péptido a la superficie celular. De este modo, se induce inmunidad mediada por células, pues se estimulan los linfocitos T citotóxicos CD8. La respuesta más adecuada contra virus y parásitos es precisamente la celular. El ADN puede ingresar a la célula a través de un vector (retrovirus, virus vaccinia, adenovirus, moléculas cargadas positivamente como liposomas y sales de calcio) o desnudos (sin proteínas asociadas) sin necesidad de un sistema vectorial complejo. En este último caso se eluden los problemas relacionados con el vector (respuesta inmune contra él y riesgo de bioseguridad en su manipulación). Dentro de las ventajas que ofrece este tipo de vacuna está la inducción de expresión de antígenos similares a los epítopes virales nativos (solamente el hospedero “manufactura” el epítope), la seguridad que garantiza sobre todo para individuos inmunocomprometidos, la posibilidad de que puedan unirse genes de diferentes patógenos (ideal para la vacuna combinada de la infancia) y el efecto potencial que se le confiere en la profilaxis de las infecciones virales crónicas y del cáncer.

Los principales problemas que puede acarrear la inserción del plásmido se relacionan con la mutagénesis que el mismo pudiera inducir en las células que lo incorporan, y con la expresión del antígeno durante un largo período de tiempo lo que afectaría el sistema inmune conduciendo a tolerancia o autoinmunidad en los sistemas que expresan el antígeno.

Aunque la influenza no es una enfermedad crónica, las múltiples variaciones y cambios antigénicos a nivel de sus glicoproteínas de superficie, han hecho infructuosas las vacunas convencionales. Se ha desarrollado un prototipo de vacuna de ADN desnudo contra este virus usando genes que codifican para proteínas de la nucleocápside que son comunes entre las distintas cepas y que por su ubicación interna dentro del virión están menos sujetas a cambios antigénicos inducidos por anticuerpos. Esta vacuna ha protegido a ratones contra infecciones por cepas heterólogas de virus de influenza y su inmunogenicidad se ha probado en primates no humanos.

PROGRAMAS PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES VIRALES

El concepto básico para el control de las enfermedades virales es el de romper un eslabón en la cadena multicausal de la infección. La dificultad para controlar estas entidades, sobre todo las transmitidas por vías respiratorias y las adquiridas por contacto directo, ha llevado a la imposición de Programas de Vacunación para la prevención de algunas de ellas.

La inmunidad individual redundante en la salud pública comunitaria, ya que al reducirse el número de sujetos susceptibles, se limita la diseminación de los agentes infecciosos, en especial si para ese agente no existen reservorios no humanos. Cuando este es el caso, no es indispensable que la respectiva vacunación cubra todos los susceptibles y basta su disminución por debajo de una cantidad crítica para impedir que el agente circule y quede así erradicado.

Cuando existen reservorios no humanos, la erradicación del agente es prácticamente inalcanzable y la vacunación necesita realizarse en casi el total de susceptibles para conseguir que el padecimiento sea controlado, pero siempre con el riesgo de aparición de casos en los no vacunados, o en los que sí lo fueron, pero no quedaron adecuadamente inmunizados, o cuando alteraron su inmunocompetencia en forma secundaria por otra causa.

La mejoría de las fuentes provisionales de agua, la adecuada eliminación de aguas negras y la higiene personal, pueden disminuir potencialmente la incidencia de poliomielitis y de otros enterovirus, así como de la hepatitis A, y los cambios ambientales han logrado cierto éxito en el control de insectos transmisores de enfermedades virales como el dengue.

En Cuba se llevan a cabo numerosos Programas de Control de Enfermedades Virales. Algunas, como la poliomielitis, han sido erradicadas. Para otras, como el dengue, se proponen nuevas y mejores estrategias de control, y varias se hallan en plena fase de eliminación mediante Programas como el de Erradicación de Parotiditis, Rubéola y Sarampión. En nuestro país el control se acompaña de un sólido Sistema de Vigilancia Epidemiológica con soporte de laboratorio.

RESUMEN

En la patogenia de las infecciones por virus influyen una serie de factores relacionados con el agente infeccioso y otros dependientes del organismo infectado, e incluso del ambiente en que se produce la interacción huésped-parásito. Los perjuicios que provoca para la salud humana la enfermedad viral han motivado el estudio de los complejos procesos moleculares que tienen lugar en las células infectadas por virus, a fin de poder explicar mejor la etiopatogenia de tales afecciones. El campo de la Quimioterapia Antiviral se ha expandido dramáticamente en las últimas dos décadas, sobre todo en el tratamiento de infecciones por herpesvirus y por VIH. No obstante, el control de estas y otras infecciones no ha sido completado y no se dispone de un medicamento totalmente eficaz para su tratamiento. El conocimiento derivado de todos los esfuerzos para el mejor manejo de las enfermedades virales ha repercutido en la aparición de nuevas iniciativas de vacunación y en la adopción de Programas de Control cada vez más integrales.

BIBLIOGRAFÍA

- Burnet F M: Principles of animal virology. Academic Press, 1960.
Fenner F: The biology of animal viruses. Academic Press, 1968.
Jawetz E, Melnick J, Adelberg E: Pathogenesis and Control of Viral Diseases. En: Medical Microbiology, 21ra Ed. Brooks G, Butel J, Ornston N (editores). Appleton and Lange, 1999.
Marsden HS: Antiviral therapies. Semin Virol 1992; 3: No.1.
McDonnell WM, Askari FK: DNA vaccines. N Engl J Med 1996; 334 : 42.
Mims CA, White DO. Viral pathogenesis and immunology. Blackwell Scientific Publication, 1984.
Schnittman SM, Pettinelli CB: Strategies and progress in the development of antiretroviral agents. En: AIDS: Biology, Diagnosis, Treatment and Prevention, 4ta ed. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (editores). Lippincott-Raven, 1997.
Tyler KL, Fields BN: Pathogenesis of viral infections. En: Fields Virology, 3ra ed. Fields BN et al. (editores). Lippincott-Raven, 1996.



Immunología de las virosis humanas

Ana Beatriz Pérez Díaz
Beatriz Sierra Vázquez

INTRODUCCIÓN

Un individuo normal se enfrenta diariamente durante la vida a múltiples agentes virales potencialmente infecciosos, pero solo ocasionalmente estos originan una enfermedad perceptible. La mayoría son destruidos en las primeras horas por mecanismos de defensa que no son antígenos específicos y que no requieren un tiempo prolongado de inducción: estos son los mecanismos de la inmunidad innata. Si un agente infeccioso viral logra burlar estas primeras líneas de defensa se activan entonces otros mecanismos de defensa que reconocen de forma específica al virus y que son capaces de prevenir infecciones subsecuentes con el mismo virus.

Existen diferentes tipos de infecciones virales (Fig. 56.1). En las infecciones virales agudas el individuo se recupera rápidamente tras unos días de síntomas y el virus es eliminado. Las infecciones persistentes son aquellas en las que el virus no se elimina del organismo tras la infección primaria e incluye las variantes de infección latente, crónica y lenta. En la primera existe una pérdida de virus infecciosos entre episodios de recurrencia de la enfermedad. Las infecciones crónicas tienen una presencia continuada de los agentes virales. Las infecciones persistentes lentas se caracterizan por un prolongado período de incubación seguido por una enfermedad progresiva en el tiempo. Los mecanismos de la respuesta inmunitaria también contribuyen a moderar las infecciones virales persistentes.

RESPUESTA INMUNITARIA INNATA O INESPECÍFICA A VIRUS

La respuesta inmunitaria innata desempeña un importante papel en el control inicial de la infección viral, mediante sus funciones antivirales y en el desencadenamiento de la respuesta inmunitaria adaptativa, a través de sus funciones inmunorregulatorias, las cuales definen en gran medida cualitativamente esta fase efectora de las defensas específicas antivirales.

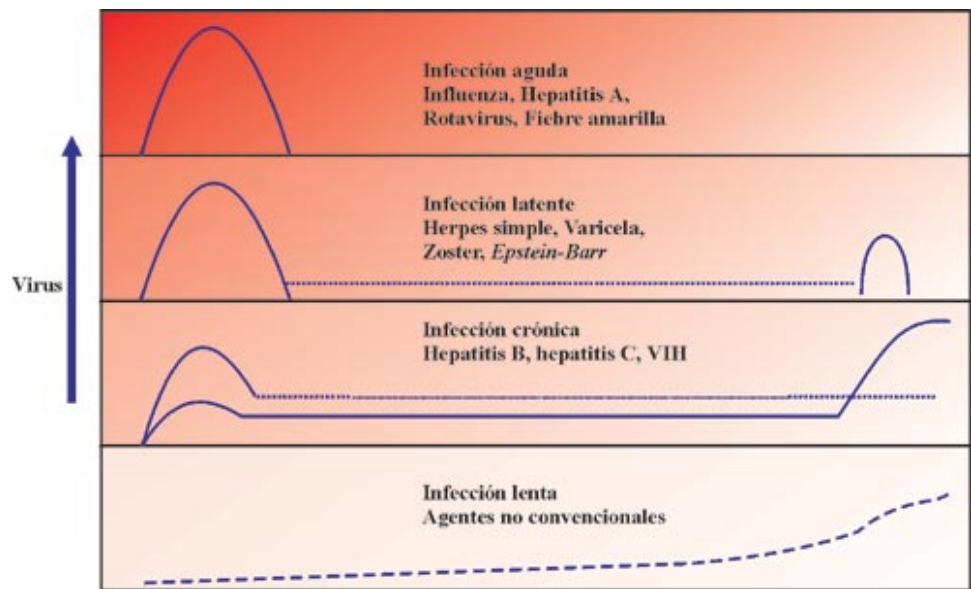


Figura 56.1. Patrones generales de infección viral.

Forman parte de la respuesta innata componentes celulares y humorales. Entre los primeros se destacan las células NK, las células dendríticas y los macrófagos. Las citoquinas (interferones e interleuquinas) y el sistema del complemento participan como mecanismos humorales.

CÉLULAS ASESINAS NATURALES O NATURAL KILLER (NK)

Las células asesinas naturales (NK) son linfocitos grandes granulosos que circulan en la sangre periférica y parecen desempeñar un papel crucial en el control de la infección viral. Estas son capaces de mediar la destrucción de células infectadas por virus sin especificidad antigénica reconocida ni memoria. A través de receptores que portan en su superficie captan variaciones en las membranas celulares que le permiten la identificación de células infectadas. Una vez activadas por el $IFN\alpha/\beta$ llevan a cabo la función de citotoxicidad a través de varios mecanismos, de los cuales el más importante parece ser mediado por perforinas. Este mecanismo se ve inhibido por la expresión aumentada de moléculas MHC en la célula diana.

Las células NK liberan citoquinas como el $IFN\gamma$, el $TNF\alpha$ y el GM-CSF. Se considera a las células NK como fundamentales en los estadios tempranos (tres primeros días) de la infección, al contribuir al control de la diseminación de los virus en los tejidos.

CÉLULAS DENDRÍTICAS

Son células derivadas de la médula ósea con función de células presentadoras de antígenos profesionales. Se localizan en la mayoría de los tejidos. Su presencia dentro de la piel, las superficies mucosas y la sangre, además de los órganos linfoides primarios y secundarios, las identifican como una de las poblaciones de importancia en el contacto temprano con los virus durante la infección. Son capaces de capturar antígenos por macropinocitosis o endocitosis, procesarlos en la periferia y migrar a áreas ricas en células T de los órganos linfoides, donde les presentan los péptidos de proteínas virales asociados a las moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad junto a otras señales coestimuladoras. Expresan en su superficie niveles elevados de las moléculas MHC (de 10 a 100 veces lo expresado por otras células presentadoras), siendo capaces de estimular de 100 a 3 000 células T una sola de ellas. Se consideran las principales productoras de IL-12 en los linfonodos, propiciando una derivación de la inmunidad de células T hacia una respuesta tipo Th1. Por su alta eficacia en la activación de células T vírgenes se considera que las células dendríticas desempeñan un papel crucial en la iniciación de la respuesta adaptativa contra agentes virales.

No sólo están involucradas en el desencadenamiento de las respuestas primarias inmunes antivirales, sino que pueden servir de vehículos para el transporte de virus vivos a los nódulos linfáticos y contribuir a la transmisión de estos a las células T con subsiguiente propagación de la infección, y por tanto, a la patogénesis de la enfermedad viral, como ocurre en la infección por VIH.

MACRÓFAGOS

Los macrófagos participan en la defensa no específica frente a infecciones virales como célula fagocítica y mediando funciones inmunorregulatorias a través de la liberación de citoquinas. Además, se ha comprobado en algunas infecciones por herpes virus la acción antiviral de macrófagos activados en presencia de $IFN\gamma$ y $TNF\alpha$, a través de la inducción de la enzima óxido nítrico sintetasa y la liberación de óxido nítrico. Este metabolito y sus intermediarios reactivos contribuyen a la defensa contra algunas infecciones virales.

Los macrófagos, asimismo, desempeñan una importante función en el aclaramiento de antígenos virales en forma de inmunocomplejos a través de la fagocitosis y eliminación de estos de la circulación, contribuyendo a la resolución de la infección.

INTERFERONES α Y β

Los interferones constituyen un componente humoral que forma parte de las defensas no específicas contra los virus. Estas "sustancias" solubles fueron descubiertas hace más de 40 años al constatare que fluidos de cultivos de células infectadas por virus contenían una proteína producida por dichas células que, al parecer, al reaccionar con células no infectadas las hacía resistentes a la infección viral por ese u otros virus, debiendo su nombre a su capacidad de interferir con la replicación viral. La importancia de la función de los interferones en la defensa natural contra infecciones virales está demostrada por tres observaciones clínicas y experimentales:

1. En la mayoría de las infecciones virales existe una fuerte correlación entre la producción de interferón y la recuperación natural.
2. La inhibición de la producción o acción de interferón (IFN) aumenta la severidad de infecciones virales.
3. El tratamiento con IFN protege contra infecciones virales.

Aunque existen tres tipos de IFNs que difieren estructural y antigénicamente (α , β y γ) el α y el β son los que muestran mayor acción antiviral. El $IFN\gamma$ es una citoquina inmunomoduladora cuyo papel fundamental se pone de manifiesto en la fase específica o adaptativa de la respuesta inmunitaria en respuesta a la estimulación celular con antígenos extraños. En general, los IFNs son producidos de novo por síntesis proteica celular tras diferentes estímulos y secretados por las células al medio extracelular. El $IFN\alpha$ puede ser inducido por células extrañas, células infectadas por virus, células tumorales y envolturas virales que estimulan linfocitos B, macrófagos y células NK a producir la proteína. Por su parte, el $IFN\beta$ es producido por fibroblastos, células epiteliales y macrófagos en respuesta a ácido nucleico viral o extraño. La síntesis de los IFNs ocurre antes del completamiento de la replicación y la liberación de nuevas partículas al medio extracelular, y actúan, una vez secretados, sobre las células vecinas al reaccionar con receptores expresados en la superficie celular. Estos receptores activan señales de transducción citoplasmáticas que penetran al núcleo para desreprimir genes celulares que codifican proteínas efectoras intracelulares con acción antiviral. La mayoría de estas actúan inhibiendo la traducción de proteínas virales (2'5' oligoadenilato sintetasa, metilasa, proteína quinasa p1, fosfodiesterasa), pero también pueden afectarse otros pasos de la replicación y maduración viral (proteína mx, glicosiltransferasa).

OTRAS CITOQUINAS

Se ha comprobado la acción antiviral de otras citoquinas. Ellas son el $TNF\alpha$ y el $IFN\gamma$, las cuales pueden ser secretadas por macrófagos o células NK en estadios tempranos de algunas infecciones virales. Estas actúan además ejerciendo funciones inmunorregulatorias de importancia. A su vez participan en este tipo de funciones otras citoquinas como son la IL-12, IL-1, IL-6, IL-15, IL-10, $TGF\beta$ y quimoquinas, liberadas por otras células de la respuesta innata.

COMPLEMENTO

El sistema del complemento también puede desempeñar su función como parte de la respuesta inespecífica antiviral. Sin embargo, se ha comprobado que es mucho menos protagonista que en otras infecciones. Se ha demostrado la acción del complemento solo sobre algunos retrovirus, los cuales son lisados en ausencia de anticuerpos por la presencia en su envoltura de una proteína viral que sirve de receptor para C1q. Por otra parte, al menos dos proteínas del complemento sirven de receptores virales sobre sus células dianas. Estos son el receptor de C3d (Cr2 o Cd21), para el virus *Epstein-Barr* y la proteína CD46 para el virus del sarampión.

RESPUESTA INMUNITARIA ESPECÍFICA A VIRUS

Antes de abordar el estudio de la respuesta inmunitaria específica a los virus recordemos algunos aspectos de importancia en relación con este tipo de respuesta. La llamada inmunidad adaptativa o específica, a diferencia de la llamada inmunidad innata que está presente en todo momento, es inducida por el contacto con los microorganismos y garantiza una protección a largo plazo contra la enfermedad.

Consta de mecanismos de defensa altamente evolucionados que poseen 5 características fundamentales:

Especificidad: exquisita capacidad de reconocimiento para las distintas moléculas antigénicas mediante receptores.

Especialización: particular forma de respuesta a los diferentes microorganismos.

Memoria: potenciación de la respuesta en cada exposición sucesiva a un microorganismo o antígeno en particular.

Diversidad: capacidad para reconocer una cantidad extremadamente elevada de microorganismos o antígenos.

Tolerancia a lo propio: capacidad de discernimiento entre antígenos propios y no propios, exceptuando del ataque por este sistema inmunitario a los primeros.

La respuesta inmune adaptativa o específica se clasifica en dos tipos de acuerdo con los mecanismos efectores que median dicha respuesta: *humoral* y *celular*

Humoral: mediado por los anticuerpos, responsables del reconocimiento específico y la eliminación de los antígenos.

Celular o mediado por células: mediados por linfocitos T, responsables del reconocimiento específico, la eliminación del antígeno y la coordinación de las funciones del sistema inmune.

Los anticuerpos y las células T son, entonces, los dos sistemas efectores de la inmunidad específica que median también la respuesta a la infección viral.

RESPUESTA ESPECÍFICA HUMORAL ANTIVIRAL. FUNCIÓN DE LOS ANTICUERPOS

Los anticuerpos reconocen los antígenos conformacionalmente, por lo que solo las proteínas externas virales pueden ser reconocidas por ellos. Pueden reconocer los virus libres, a través de las glicoproteínas de superficie y proteínas externas de la cápside, y las células infectadas por ellos, que expresan proteínas virales en su superficie. Los anticuerpos poseen cuatro funciones efectoras principales mediante las cuales controlan las infecciones

virales: *neutralización, opsonización, activación del complemento y citotoxicidad mediada por células*. A continuación analizaremos cada una de ellas.

Neutralización: Para llevar a cabo esta función los anticuerpos, específicamente IgG (todos los isotipos) e IgA de alta afinidad, se unen a glicoproteínas virales de superficie o proteínas externas de la cápside. De esta forma, evitan que las partículas virales se unan a sus receptores específicos en las células dianas o susceptibles de ser infectadas, penetren en las mismas y ocurra el desnudamiento y entrada a la célula de los ácidos nucleicos virales.

Es posible que las partículas virales sean neutralizadas aún con la unión de una sola molécula de anticuerpo. En este caso, el anticuerpo puede inducir cambios en la conformación viral que alteran su estructura y evitan su interacción con sus receptores específicos o interfiere con la fusión del virus a la superficie celular.

Se ha descrito también *neutralización interna*, en la que los anticuerpos al unirse a las glicoproteínas virales expresadas en la superficie de la célula infectada pueden regular negativamente la expresión de los genes virales dentro de la célula infectada y otras fases del ciclo viral dentro de la célula. Los mecanismos a través de los cuales ocurre este tipo de neutralización no son, sin embargo, bien conocidos hasta el momento.

La neutralización es la más importante función de los anticuerpos en la defensa contra los virus. De ocurrir una neutralización efectiva se aborta la infección viral, pues no ocurre infección de la célula diana ni replicación viral. Es por ello, que la inducción de anticuerpos neutralizantes es una medida bastante confiable de la efectividad de las vacunas antivirales.

Opsonización. Esta función también ocurre a través de la unión de los anticuerpos, especialmente IgG1 e IgG3, a glicoproteínas virales de superficie o proteínas externas de la cápside.

De esta forma, favorecen el reconocimiento del inmunocomplejo anticuerpo-partícula viral por las células fagocíticas que expresan receptores para la porción Fc de los anticuerpos, y la fagocitosis del mismo.

La unión de la fracción Fc a su receptor en el fagocito induce, además, un aumento de su capacidad fagocítica, de la unión de los lisosomas a los fagosomas y de la actividad microbicida de este.

Activación del complemento. Los anticuerpos, en especial IgM, y también IgG1 e IgG3, son capaces de activar el complemento al unirse a la proteína C1q del complejo C1 de la vía clásica.

Esto genera la enzima C3 convertasa de la vía clásica que origina gran cantidad de moléculas C3b. Estas moléculas se incorporan en los complejos virus-anticuerpos potenciando la neutralización y producen agregación de los viriones cubiertos por anticuerpos reduciendo el número de unidades infecciosas.

Las moléculas de C3b depositadas son reconocidas por un receptor en la superficie de las células fagocíticas denominado CR1 (el cual también reconoce otros fragmentos como el C4b producidos en menor cuantía que el C3b) y se potencia la opsonización inducida por la unión de la porción Fc del anticuerpo a su receptor.

Otros derivados proteolíticos de la vía clásica como C5a pueden inducir reconocimiento y fagocitosis al unirse a su receptor aun en ausencia de unión Fc-receptor Fc. Este mecanismo es, particularmente, importante en el caso de la activación del complemento por IgM, dado que los fagocitos no poseen receptores Fc para IgM. La opsonización es, de hecho, una de las más importantes acciones del complemento.

Finalmente, el complemento puede producir lisis de las células infectadas por los virus o de aquellos virus que posean envoltura lipídica al activarse la cascada de proteínas plasmáticas que culmina con la inserción del complejo C5b-C9 de ataque a la membrana.

Citotoxicidad mediada por anticuerpos. Los anticuerpos pueden reconocer las proteínas virales expresadas en las células infectadas y mediar la lisis de estas células por células con capacidad citolítica y que expresan receptores para la fracción Fc de la IgG1 y de la IgG3 como neutrófilos, fagocitos mononucleares, y células NK. En el caso de las células NK, que son los mediadores predominantes de la citotoxicidad mediada por anticuerpos, la unión de receptor Fc a la IgG activa la síntesis y secreción de citoquinas como el TNF y el IFN γ y los mecanismos secretorios y membranolíticos que involucran perforina y granzimas que median la lisis.

La perforina es una proteína de 65 kd con homología de secuencia con los componentes C6 y C9 del complemento que se almacena en los gránulos citoplasmáticos en forma de

monómero. Las perforinas se liberan al fusionarse la membrana de los gránulos con la membrana plasmática. Al ponerse en contacto con el calcio extracelular la perforina se polimeriza, preferencialmente en la bicapa lipídica, formando poros que permiten la entrada de agua e iones y la lisis osmótica de la célula. Estos poros permiten, asimismo, la entrada de granzimas también liberadas por la célula NK como la granzima B, una serina proteasa que activa una cascada de cisteína proteasas que culminan con la muerte por apoptosis de la célula.

RESPUESTA ESPECÍFICA CELULAR ANTIVIRAL. PAPEL DE LAS CÉLULAS T

La respuesta de células T exhibe tres fases fundamentales: fase de activación y expansión durante la primera semana de la infección viral, fase nula o silente durante la semana que sigue a la eliminación del virus y fase de memoria, que se extiende por un largo período de tiempo.

Recordemos que las células T, a diferencia de los anticuerpos, no reconocen los antígenos conformacionales. Ellas reconocen pequeños fragmentos de los antígenos que han sido procesados previamente por células que los transforman en péptidos, por lo que cualquier proteína de la partícula viral, externa o interna, puede ser diana de la respuesta celular.

Los fragmentos peptídicos se presentan a las células T unidos a determinadas moléculas en la superficie de las células que los procesan, y que por ello, se conocen como células presentadoras de antígeno. Esas moléculas se conocen como moléculas MHC y pueden ser de dos tipos, I y II.

Las de tipo I presentan el antígeno a las células T CD8⁺ y las de tipo II a las células T CD4⁺.

Linfocitos T CD4⁺. Reconocimiento de antígenos virales y acción antiviral

Como ya comentamos los linfocitos T CD4⁺ reconocen fragmentos de antígenos, en este caso virales, expresados en la superficie de células presentadoras de antígeno en el contexto de moléculas MHC II.

Solo determinadas células, como los linfocitos B y los macrófagos, que expresan estas moléculas, son capaces de presentar los antígenos virales a los linfocitos T CD4⁺. Estas células internalizan las partículas virales ya sean por fagocitosis, en el caso de los macrófagos, o por endocitosis, unidos a la molécula de anticuerpo en la superficie de las células B.

Una vez internalizados los procesan proteolíticamente por medio de proteasas ácidas como las cathepsinas B y D las cuales generan fragmentos peptídicos. Las moléculas MHC II, sintetizadas por las propias células en el retículo endoplásmico, viajan hasta la superficie de las células en las vesículas fusionándose con los endosomas que contienen los péptidos.

Cuando esto ocurre el pH bajo de los endosomas escinde una proteína conocida como cadena invariante que deja libre el lugar para que se unan los péptidos antigénicos virales. Este complejo antígeno viral-molécula MHC II se expresa en la superficie de la célula, siendo reconocida por el receptor de antígeno del linfocito T CD4⁺.

Los linfocitos T CD4⁺ desempeñan una función central en la inmunidad antiviral. Ellas están situadas al centro de la cascada de la respuesta inmune y contribuyen al control de la infección viral a través de la producción de citoquinas, proteínas de naturaleza hormonal que median, en gran parte, la respuesta inmune, producidas por células y que actúan sobre células que intervienen en esta respuesta. *Como ya conocemos, los linfocitos T CD4⁺ se diferencian en células Th1 o Th2 durante el reconocimiento del complejo antígeno viral-molécula del sistema mayor de histocompatibilidad II, al condicionar esto a las citoquinas que producen y por ende, a sus funciones.* En esta diferenciación influyen las citoquinas liberadas en fases tempranas por células de la respuesta innata.

Los linfocitos T CD4⁺ inicialmente estimulados en presencia de IL-12 e IFN γ tienden a convertirse en células TH1. La IL-12 y el IFN γ son producidos por macrófagos y células NK

en fases tempranas de la respuesta a virus. Los linfocitos T CD4⁺ que se convierten a Th1 tras reconocer el complejo antígeno viral-molécula MHC II en la superficie de la célula presentadora se activan y producen citoquinas como el TNF, el IFN γ y la IL-2. Las dos primeras poseen acción antiviral directa, las cuales interfieren con la replicación del virus por mecanismos similares a los de los IFN α y β , citoquinas que desempeñan una importante función en la respuesta inmune antiviral no adaptativa o inespecífica y que fueron consideradas en detalle al inicio de este Capítulo.

El IFN γ y la IL-2 reclutan y activan macrófagos y células con capacidad citolítica como las NK y los linfocitos CD8⁺. En relación a estos últimos, se ha planteado que los linfocitos CD4⁺ son esenciales en la respuesta de linfocitos CD8⁺ en infecciones virales crónicas al favorecer la interacción de estos con las células que les presentan los antígenos al aumentar la expresión de moléculas llamadas B7-1 y B7-2 en estas células.

El IFN γ también induce la producción de anticuerpos de tipo IgG3 e IgG2a, los cuales, como ya consideramos, son responsables de la mayor parte de las funciones antivirales de los anticuerpos.

Los linfocitos T CD4⁺ de tipo Th1 son, considerando todo lo anterior, de mayor importancia en la respuesta a virus, por cuanto liberan citoquinas que activan las células involucradas en la eliminación de estos.

Los linfocitos T CD4⁺ inicialmente estimulados en presencia de IL-4, la cual puede ser liberada por células mastoides y basófilos, se convierten a Th2 y producen citoquinas como la IL-4 y la IL-5, que estimulan la proliferación de las células B y la producción de determinados isotipos de anticuerpos. Estos linfocitos tienen un papel menos importante en la respuesta inmune a virus.

Se han descrito también células CD4⁺ con actividad citolítica en diferentes sistemas, como, por ejemplo, en la respuesta inmune contra virus dengue.

Linfocitos T CD8⁺. Reconocimiento de antígenos virales y acción antiviral

Los linfocitos T CD8⁺, como ya mencionamos, reconocen fragmentos de antígenos, en este caso virales, expresados en la superficie de células presentadoras de antígeno en el contexto de moléculas MHC I.

Las moléculas MHC I se expresan en todas las células nucleadas del organismo, puesto que cualquiera de estas células puede resultar infectada por virus.

Todas ellas son capaces de presentar los antígenos virales a los linfocitos T CD8⁺. Los fragmentos de antígenos que se unen a las MHC I para ser reconocidos por los linfocitos T CD8⁺ son entonces mayormente derivados de virus que ponen la maquinaria biosintética de la célula en función de la síntesis de sus propias proteínas en el citosol. Estas proteínas son posteriormente degradadas en péptidos por un complejo de proteasas multicatalítico denominado proteosoma y los péptidos generados son transportados al interior del retículo endoplásmico por unas proteínas transportadoras situados en la membrana de este. Una vez allí este se une a las moléculas MHC I, las cuales se sintetizan en el retículo endoplásmico y no alcanzan su conformación final hasta que se unen al péptido.

Este complejo antígeno-molécula MHC I se expresa en la superficie de la célula, siendo reconocida por el receptor de antígeno del linfocito T CD8⁺.

Las células CD8⁺ controlan la infección viral por dos mecanismos: *citólisis de las células infectadas* y *producción de citoquinas con acción antiviral*.

Citólisis de las células infectadas. El primero de estos mecanismos, la citólisis, lo pueden llevar a cabo por dos vías diferentes, una *secretoria* y *membranolítica* que involucra las perforinas y granzimas, y una *no secretoria mediada por receptor* que involucra el ligando Fas.

La primera de estas vías la analizamos en este Capítulo cuando describimos la citotoxicidad mediada por anticuerpos por las células NK.

La vía dependiente de ligando Fas se activa al ocurrir el reconocimiento del antígeno por el linfocito CD8⁺ en el contexto de la molécula MHC I expresada en la célula infectada por el virus. Este contacto entre las células origina un aumento de la expresión del ligando de Fas

en el linfocito CD8⁺ y de la molécula Fas en la célula infectada. La unión de Fas a su ligando transduce una señal a través de su dominio citoplasmático que activa una serie de enzimas, entre ellas proteasas, todo lo cual culmina en la muerte de la célula por apoptosis.

La citólisis de las células infectadas es más importante en la eliminación de virus no citolíticos, como el LCMV y HBV, que pueden replicarse y producir progenie infecciosa sin destruir sus células hospederas.

Producción de citoquinas con acción antiviral. Los linfocitos CD8⁺ producen dos citoquinas con acción antiviral, IFN γ y TNF. Los mecanismos de acción de estas citoquinas son similares a los de los interferones α y β , ya analizados al abordar la inmunidad innata, aunque en las acciones del IFN γ y el TNF priman las funciones inmunorregulatorias con respecto a las inhibidoras directas de la replicación viral.

Se plantea, además, que la unión de estas citoquinas a sus receptores en las células infectadas puede, por sí misma, inducir apoptosis.

La acción de las citoquinas antivirales es más efectiva en los virus citolíticos, como el HSV I, II y CMV. Estos virus destruyen la célula que infectan y su continua propagación depende de la infección de nuevas células. Las citoquinas con acción antiviral actúan, una vez secretadas, sobre las células vecinas induciendo proteínas efectoras capaces de inhibir la replicación y maduración viral. De esta forma, crean un estado de resistencia a la infección viral y evita la propagación del virus.

EVASIÓN DE LOS VIRUS A LA RESPUESTA INMUNITARIA

La gran mayoría de las infecciones virales persistentes deben su prolongada sintomatología al desarrollo de mecanismos de escape de los virus a la respuesta inmunitaria del hospedero, haciéndolos parcial o totalmente ineficaces en la eliminación de los agentes invasores. Este es el caso de numerosas enfermedades virales que afectan al humano (SIDA causada por VIH, hepatitis crónica -HBV Y HCV, papiloma, herpes simple, etc.). En el Cuadro 56.1 se muestran algunos de los mecanismos de evasión más importantes y ejemplos de los virus implicados en estos.

INMUNOPATOLOGÍA DE INFECCIONES VIRALES

Existen infecciones virales en las que el daño tisular y la sintomatología o pronóstico de la enfermedad no depende de la acción del virus sobre el organismo, sino que es la respuesta inmunitaria del hospedero dirigida contra el virus quien causa la mayor afectación. En este caso, se habla de inmunopatología inducida por los virus. Esto ocurre, generalmente, en presencia de virus poco citopáticos.

Los dos ejemplos más típicos son la enfermedad por inmunocomplejos y el daño mediado por células T y citoquinas. La primera se observa en aquellas infecciones crónicas como las hepatitis B y C y la del VIH en las que la liberación mantenida de antígenos virales a la circulación condiciona la formación de inmunocomplejos que sobrepasa los límites de aclaramiento de células del sistema reticuloendotelial. Estos complejos antígeno-anticuerpo se van a depositar en arteriolas y vasos de menor calibre lo cual ocasiona la aparición de glomerulonefritis, arteritis y coroiditis.

El mejor ejemplo de inmunopatología por células T en humanos es producido por el virus de la Hepatitis B. Las células T específicas a antígenos virales son las responsables del daño hepático en aquellos portadores de una hepatitis crónica activa. Por su parte, en la infección por VIH se sugiere que la pérdida de células T CD4⁺ se debe en parte, a la acción citotóxica de células T CD8⁺ específicas al virus. Algunas evidencias clínicas y experimentales sugieren la posible función de las citoquinas proinflamatorias en la patogénesis del síndrome de *shock* por dengue.

Cuadro 56.1. Estrategias de los virus para evadir la respuesta inmunológica
(VEB: virus *Epstein-Barr*, VIH: virus de inmunodeficiencia humana, CMV: citomegalovirus, HTLV I: virus linfotrópico de células T humanas)

Mecanismo de evasión	Ejemplos	
Variación antigénica (escape al reconocimiento de células T y anticuerpos)	Mutaciones virales	Hepatitis B, C y VIH
	Recombinación génica	Influenza
Accesibilidad limitada de antígenos virales al sistema inmune	Tropismo viral a células que no expresan MHC I o MHC II	Papilloma (queratinocitos) Rabia (neuronas) Herpes simple, varicela zoster sarampión (neuronas) Adenovirus, CMV, VEB Herpes simple, VEB VEB
	Inhibición activa por la infección de la expresión en la superficie celular de antígenos celulares (afecta reconocimiento por células T): MHC I MHC II Moléculas de adhesión o antígenos virales (afecta reconocimiento de anticuerpos)	Herpes simple, varicela, VEB, VIH, sarampión
Tolerancia a antígenos virales	Transmisión transplacentaria de virus poco citopáticos Homología de secuencias entre proteínas virales y propias	CMV, hepatitis B, rubéola (infección prenatal)
Modulación por el virus de la respuesta inmune (alteración de los patrones de respuesta normal)	Infección de células que participan en la respuesta inmune: linfocitos T, linfocitos B monocitos	VIH, HTLV I VEB VIH
	Homología con factores supresores o liberación de citoquinas o receptores de citoquinas Superantígenos virales	VEB por virus Rabia

RESUMEN

La respuesta inmune antiviral está dada por mecanismos de la respuesta innata como de la adaptativa. La respuesta inmune innata desempeña un importante papel en el control inicial de la infección viral mediante sus funciones antivirales y en el de desencadenamiento de la respuesta inmune adaptativa a través de sus funciones inmunorregulatorias. Forman parte de la respuesta innata componentes celulares y humorales. Entre los primeros se destacan las células NK, las células dendríticas y los macrófagos. Las citoquinas (interferones e interleuquinas) y el sistema del complemento participan como mecanismos humorales. La llamada inmunidad adaptativa o específica es inducida por el contacto de los microorganismos y garantiza una protección a largo plazo contra la enfermedad. Los anticuerpos y las células T son los dos sistemas efectoras que median la respuesta inmune específica a la infección viral. Los anticuerpos poseen cuatro funciones efectoras principales mediante las cuales controlan las infecciones virales: neutralización, opsonización, activación del complemento y citotoxicidad mediada por células y es la neutralización la más importante de estas funciones. Los linfocitos T CD4⁺ intervienen en la respuesta antiviral a través de la producción de citoquinas inmunorregulatorias que activan el resto de las células que intervienen en esta respuesta. Las células CD8⁺ controlan la infección viral por dos mecanismos: citólisis de las células infectadas y producción de citoquinas con acción antiviral. Los virus poseen diferentes estrategias para evadir los mecanismos de respuesta inmune antiviral ya mencionados. Cuando esto ocurre se establecen infecciones virales crónicas o persistentes. Existen infecciones virales en las que el daño tisular y la sintomatología o pronóstico de la enfermedad no depende de la acción del virus sobre el organismo, sino que es la respuesta inmunitaria del hospedero dirigida contra el virus quien causa la mayor afectación.

BIBLIOGRAFÍA

- Kaslow RA, Evans A. Epidemiologic Concepts and Methods. *In: Evans A, Kaslow RA. In: Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control*, New York-London: Plenum Medical Book Company, 1997.
- Whitton JL, Oldstone BA. Immune Response. *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. In: Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996.
- Nairn R. Inmunología. *En: Brooks GF, Butel JS, Morse SA. En: Microbiología Médica de Jawets, Melnick y Addelberg*, México, DF-Santafé de Bogotá: Editorial El Manual Moderno, 1999.
- Nash T. Immunity to virus. *In: Roitt I, Brostoff J, Male D. In: Immunology*, London-New York, Gower Medical Publishing, 1996.
- Mills J. Viral infections. *In: Basic and clinical immunology*. Eds. Stites, D. P. and Terr A. I. New York, Appleton and Lange, 1996.
- Gray D. Host Defense Against Infection. *In: Janeway CA, Travers P. In: Immunobiology. The Immune System in Health and Disease*. New York-London: Garland Publishing Inc, 1997.
- Tough DF, Sprent J. Anti-viral immunity: spotting virus-specific T cells. *Curr Biol* 1998; 8(14): 498-501.
- Groopman J. Failures of Host Defense Mechanism. *In: Janeway CA, Travers P. In: Immunobiology. The Immune System in Health and Disease*, New York-London: Garland Publishing Inc, 1997.
- Gianani R, Sarvetnick N. Viruses, Cytokines, antigens and autoimmunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2257-9.
- Hill AB, Lobigs M, Blanden RV, Kulkarni A. The cellular immune response to flaviviruses. *In: Viruses and the Cellular Immune response*, Edit. Thomas DB, Marcel Dekke, New York, 1993; p. 363-88.
- Kurane I and Ennis FA. Cytokines in dengue virus infections: role of cytokines in the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Seminars in Virology* 1994; 5: 443-48.
- Betheli DB, Fiobbe K, Phuong CXT, Day NPJ, Phuong PT *et al.* Pathophysiologic and prognostic role of cytokines in dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1998; 177: 778-82.



Capítulo
57

Diagnóstico de las enfermedades virales

Patricia Jiménez López

INTRODUCCIÓN

La virología médica presupone un pensamiento científico integrador donde se vinculen los elementos clínico-epidemiológicos que acompañan a cualquier enfermedad infecciosa con los datos que aporta el laboratorio clínico y microbiológico.

Con frecuencia es difícil orientar el diagnóstico, por cuanto un mismo virus puede producir varios síndromes clínicos y, a su vez, una misma enfermedad puede tener todo un amplio espectro de posibilidades etiológicas.

Entre los cuadros más comúnmente observados a punto de partida de infecciones por virus se encuentran la meningoencefalitis (en el rango de la meningitis aséptica hasta una encefalitis severa), el síndrome febril en asociación con *rash* y/o artralgias, la conjuntivitis, y los síndromes mononucleósico, icterico y purpúrico-hemorrágico.

De forma resumida presentamos en este capítulo el diagnóstico diferencial entre las etiologías virales involucradas en la producción de los citados síndromes clínicos (Cuadros 57.1-6).

Cuadro. 57.1. Diagnóstico diferencial de las meningoencefalitis virales

Causa	Transmisión	Familia	Virus
Primaria	Humana	<i>Picornaviridae</i> <i>Herpesviridae</i> <i>Togaviridae</i> <i>Paramyxoviridae</i> <i>Poxviridae</i> <i>Retroviridae</i>	Poliovirus 1-3, coxsackievirus B y algunos A, echovirus (varios tipos), enterovirus 70 y 71 HSV1, VZV, EBV, CMV Virus de la rubéola (rubéola congénita) Virus de la parotiditis, virus del sarampión Virus vaccinia VIH
	Por artrópodos Mosquitos y jejenes	<i>Togaviridae</i>	Virus de la encefalitis equina del este (EEE), virus de la encefalitis equina del oeste (EEO), virus de la encefalitis equina venezolana (EEV)

Cuadro. 57.1. Diagnóstico diferencial de las meningoencefalitis virales (Continuación)

Causa	Transmisión	Familia	Virus	
Secundaria y/o posvacunal	Garrapatas	<i>Flaviviridae</i>	Virus de la encefalitis de San Luis (SLE), virus de la encefalitis japonesa (VEJ), virus de la encefalitis del Valle Murray, virus Rocio, virus de la fiebre del oeste del Nilo (WNV)	
		<i>Bunyaviridae</i>	Virus de la encefalitis de California, virus La Crosse, virus de la fiebre del Valle Rift	
		<i>Flaviviridae</i>	Virus de la encefalitis Rusa de primavera-verano, virus de la encefalitis del centro de Europa, virus Powassan, virus Louping, virus Negishi, virus de las enfermedades de los bosques Kyassanur, virus de la fiebre hemorrágica de Omsk	
		<i>Rhabdoviridae</i>	Virus de la rabia	
		<i>Herpesviridae</i> <i>Arenaviridae</i> <i>Flaviviridae</i>	Herpesvirus simio Virus de la conomeningitis linfocítica Virus Modoc	
	Por virus lentos	(ADN)	<i>Paramyxoviridae</i>	Virus de la parotiditis, virus del sarampión
			<i>Ortomyxoviridae</i>	Virus de la influenza
			<i>Togaviridae</i>	Virus de la rubéola
			<i>Rhabdoviridae</i>	Virus de la rabia
			<i>Ortomyxoviridae</i>	Virus de la influenza
		(ARN)	<i>Paramyxoviridae</i>	Virus del sarampión
			<i>Flaviviridae</i>	Virus de la fiebre amarilla
			<i>Adenoviridae</i>	Adenovirus 7-32 (encefalitis subaguda)
			<i>Papovaviridae</i>	Poliomavirus JC y SV40 (leucoencefalopatía multifocal progresiva)
			<i>Herpesviridae</i>	HSV, VZV, CMV, virus Saimiri "B" (encefalitis subaguda o crónica)
(Retrovirus)	(ARN)	<i>Herpesviridae</i>	VZV	
		<i>Picornaviridae</i>	Poliovirus y algunos echovirus (meningoencefalitis crónica en inmunocomprometidos)	
	(Retrovirus)	<i>Paramyxoviridae</i>	Virus del sarampión (leucoencefalopatía subaguda y panencefalitis esclerosante subaguda)	
		<i>Togaviridae</i>	Virus de la rubéola (rubéola congénita progresiva)	
		<i>Flaviviridae</i>	Virus de la encefalitis Rusa de primavera-verano y virus de la encefalitis del Centro de Europa (recurrencias de meningoencefalitis y síndrome de Kozhevnikov)	
		<i>Rhabdoviridae</i>	Virus de la rabia (encefalitis)	
		<i>Retroviridae</i>	VIH y HTLV (neuromielloencefalopatía)	

Cuadro 57.2. Diagnóstico diferencial de los síndromes febriles con *rash* y artralgia de causa viral

Transmisión	Familia	Virus
Humana	<i>Paramyxoviridae</i>	Virus del sarampión
	<i>Herpesviridae</i>	VZV; HHV6B; EBV
	<i>Togaviridae</i>	Virus de la rubéola
	<i>Parvoviridae</i>	Parvovirus B19
	<i>Picornaviridae</i>	Coxsackievirus A (muchos tipos) y B1,3,5; Echovirus 2, 4, 6, 9, 11, 16, 18
Por artrópodos	<i>Flaviviridae</i>	Virus del dengue; virus de la fiebre del oeste del Nilo (WNV); virus Banzí; Bussuquara; Edge Hill; Ilheus
Por roedores	<i>Bunyaviridae</i>	Virus Oropouche
	<i>Arenaviridae</i>	Virus de la fiebre Lassa, fiebre hemorrágica argentina (FHA) y fiebre hemorrágica boliviana (FHB)

Cuadro 57.3. Diagnóstico diferencial del síndrome mononucleósico viral

Transmisión	Familia	Virus
Humana	<i>Herpesviridae</i> <i>Adenoviridae</i>	EBV; CMV; HSV Adenovirus (varios tipos)
Por artrópodos	<i>Togaviridae</i> <i>Flaviviridae</i>	Virus de la rubéola Virus del dengue; virus de la fiebre del oeste del Nilo (WNV)

Cuadro 57.4. Diagnóstico diferencial del síndrome icterico viral

Transmisión	Familia	Virus
Humana	<i>Picornaviridae</i> <i>Hepadnaviridae</i> <i>Flaviviridae</i> <i>Caliciviridae</i> <i>No clasificados</i> <i>Herpesviridae</i> <i>Adenoviridae</i>	Virus de la hepatitis A (HAV), echovirus 4 y 9, coxsackievirus A4, A9 y B5 Virus de la hepatitis B (HBV) Virus de la hepatitis C (HCV) y virus de la hepatitis G (HGV) Virus de la hepatitis E (HEV) Virus de la hepatitis D (HDV), TTV* y SEN-V* CMV (inmunodeprimidos) Adenovirus 1 y 25 (niños transplantados)
Por artrópodos	<i>Flaviviridae</i>	Virus de la fiebre amarilla (FA), virus de la fiebre del oeste del Nilo (WNV)
Por roedores	<i>Bunyaviridae</i> <i>Arenaviridae</i>	Virus de la fiebre del Valle Rift Virus sabia y virus guaranito

* Virus de reciente descubrimiento (1997, 1998).

Cuadro 57.5. Diagnóstico diferencial de las conjuntivitis virales

Transmisión	Familia	Virus
Humana	<i>Adenoviridae</i> <i>Picornaviridae</i> <i>Paramyxoviridae</i> <i>Ortomyxoviridae</i> <i>Herpesviridae</i>	Adenovirus 3, 7, 14 (conjuntivitis de piscina), 8, 11, 19, 37 (queratoconjuntivitis epidérmica) Coxsackievirus A24; enterovirus 70 Virus del sarampión Virus de la influenza (complicación) HSV (queratoconjuntivitis herpética primaria o recurrente)
Por Artrópodos	<i>Flaviviridae</i> <i>Togaviridae</i>	Virus del dengue (congestión conjuntival) Virus de la encefalitis equina del este (EEE)
Por roedores	<i>Arenaviridae</i>	Virus de la fiebre hemorrágica argentina (FHA) y virus de la fiebre hemorrágica boliviana (FHB)

Cuadro 57.6. Diagnóstico diferencial del síndrome purpúrico hemorrágico

Transmisión	Familia	Virus
Humana	<i>Filoviridae</i>	Virus Ebola y virus Marburgo
Por artrópodos	<i>Flaviviridae</i> <i>Bunyaviridae</i>	Virus del dengue, virus de la fiebre amarilla (virus de la fiebre de los bosques Kyassanur), virus de la fiebre hemorrágica de Omsk Virus de la fiebre del Valle Rift, virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, virus Hantaan
Por roedores	<i>Togaviridae</i> <i>Arenaviridae</i>	Virus Chikungunya Virus de la fiebre Lassa, virus de la fiebre hemorrágica argentina (FHA), virus de la fiebre hemorrágica boliviana (FHB), virus guaranito y virus sabia

Cuadro 57.7. Principales tipos de muestras biológicas para diagnóstico virológico

Aparatos	Muestras
Sistema nervioso	Líquido cefalorraquídeo (LCR) Biopsia cerebral*
Aparato respiratorio	Exudado nasal Exudado faríngeo Exudado nasofaríngeo Gargarismos Saliva Espustos Lavado bronquial Aspiración bronquial Líquido pleural
Aparato ocular	Exudado o raspado conjuntival Lágrimas Exudado o biopsia corneal*
Sistema cardiovascular	Líquido pericárdico
Sistema digestivo	Heces fecales Exudado rectal Líquido ascítico Biopsia hepática*
Aparato genitourinario	Orina Exudado o raspado endocervical Exudado vaginal Exudado y líquido de vesículas Raspado de la base de lesiones Semen
Piel	Exudado y raspado de lesiones cutáneas
Sangre	Total Suero Sangre del cordón umbilical
SOMA	Líquido articular

Material de biopsia y/o necropsia de los distintos aparatos.

* Ejemplo: médula ósea.

* El medio de transporte para estas muestras incluirá proteínas (albúmina o suero animal), gelatina, tampón, y tendrá un pH neutro y concentraciones altas de antibióticos.

Cuando un paciente es afectado por una enfermedad viral, el diagnóstico microbiológico puede llevarse a cabo directamente por identificación del virus o por el reconocimiento de una respuesta específica del huésped a la infección. Para ello, debe obtenerse una muestra biológica del sitio donde al menos uno de estos elementos pueda encontrarse. Ejemplos de estas muestras son la sangre, el líquido cefalorraquídeo, las heces fecales, la orina, las secreciones respiratorias, entre otras.

Para la recolección de la muestra biológica debe garantizarse que esta sea representativa del proceso patológico en cuestión y tomada en el momento adecuado en que puedan estar presentes los elementos que se pretenden buscar, su cantidad ha de ser suficiente para realizar un estudio completo y se tomará con las técnicas de asepsia requeridas para cada caso. Es común que se precise la adición de antibióticos para evitar la proliferación de bacterias.

El traslado de la muestra debe efectuarse en condiciones de baja temperatura y en un medio apropiado para mantener la viabilidad del virus que se sospecha. En todos los casos, es importante el rotulado de la muestra con datos suficientes que ayuden en la orientación diagnóstica.

Los principales tipos de muestras biológicas tomadas según los distintos niveles sistémicos se presentan en el Cuadro 57.7.

En el laboratorio de virología, no solo se trabaja con muestras de procedencia humana. Los animales y sus tejidos constituyen muchas veces también una valiosa fuente de aporte de muestra biológica para diagnóstico. De ellos, el preparado de un pool de insectos (mosquitos) es un claro ejemplo de una herramienta eficaz para el diagnóstico de las arbovirosis.

AISLAMIENTO VIRAL E IDENTIFICACIÓN

Una vez tomada la muestra se intenta el aislamiento viral en alguno de los diferentes sistemas biológicos: cultivo celular, huevos embrionados y animales de experimentación.

Existen variantes de cultivo celular: cultivo primario, líneas celulares diploide y continua que se diferencian entre sí en múltiples aspectos y son susceptibles de ser infectadas por

tipos diferentes de virus. El crecimiento viral en cultivo puede ser identificado por una de las siguientes manifestaciones de la interacción virus-célula:

1. Efecto Citopático (ECP).
 - a) Lisis o necrosis. Ejemplo: *Picornavirus* excepto HAV.
 - b) Formación de cuerpos de inclusión (intranucleares, citoplasmáticos, ambos), que representan:
 - Sitio de desarrollo del virión.
 - Masas virales en replicación.
 - Productos residuales de la multiplicación.
 Ejemplo: Virus rábico.
 - c) Citomegalia. Ejemplo: Citomegalovirus (CMV).
 - d) Formación de sincitios (células gigantes multinucleadas).
Ejemplo: Virus sincitial respiratorio (RSV).
 - e) Vacuolización citoplasmática. Ejemplo: Espumavirus.
 - f) Agrupación de grandes células redondeadas. Ejemplo: Adenovirus.
 - g) Redondeamiento uniforme y difuso de las células. Ejemplo: Virus del herpes simple (HSV).
2. Interferencia Viral.
Algunos virus no producen cambios citopáticos directos, sino que su presencia en el cultivo puede ser demostrada por su interferencia con el ECP que causara otro virus inoculado en el mismo cultivo celular. Ejemplo. Virus de la rubéola interfiere con el ECP lítico de los Echovirus.
3. Producción de hemaglutinina.
Algunos virus maduran en la membrana celular y producen una enzima llamada hemaglutinina, de modo que si se adicionan eritrocitos a un cultivo celular infectado por tales virus, estos se adsorverán a la superficie celular (hemadsorción). También se pueden detectar libres mediante su aglutinación con eritrocitos (hemaglutinación), proceso que puede inhibirse usando antisueros específicos (inhibición de la hemaglutinación).
4. Transformación morfológica por virus oncógenos.
Varios virus provocan pérdida de los mecanismos celulares de inhibición por contacto y formación de focos en los cultivos en que se inoculan. Ejemplo, HSV-2.
5. Inmortalización. Ejemplo; EBV causa inmortalización de linfocitos.
Por otra parte, la inoculación de virus en huevos embrionados: membrana corioalantoidea, sacos amniótico, alantoideo, vitelino, o el propio embrión, permite la multiplicación viral. Posteriormente, se extraen los líquidos y tejidos y se examinan en busca de un aumento del título viral y de lesiones.

También los animales (ratones, hámsters, cobayos, conejos, monos, mosquitos) constituyen un sistema para aislamiento de virus, al ser inoculados por diferentes vías: intracraneal, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, intratorácica. Luego el (los) animal (es) es observado, estudiado y se examinan sus tejidos cuando se le sacrifica.

Cualquiera que sea el sistema biológico empleado, la identificación viral puede hacerse mediante diversas técnicas: fijación del complemento (FC), neutralización (Nt), hemaglutinación e inhibición de la hemaglutinación (IH), inmunofluorescencia (IF), inmunoelectroforesis, y ensayos inmunoenzimáticos (ELISA, RIA), todas encaminadas a la detección de antígenos virales.

SEROLOGÍA

Los procedimientos diagnósticos para la detección de anticuerpos inducidos por los virus, son cada día más empleados dada la relativa rapidez y eficacia con que permiten orientar el diagnóstico. Las técnicas más empleadas en la actualidad son: inmunofluorescencia, fijación del complemento, radioinmunoensayos, neutralización, inhibición de la hemaglutinación, ensayos inmunoenzimáticos y *Western blot*.

BIOLOGÍA MOLECULAR

Los métodos diagnósticos basados en el estudio de los ácidos nucleicos han revolucionado la virología moderna al permitir la detección de genes virales en muestras de un indivi-

duo infectado aún en ausencia de manifestaciones clínicas. Técnicas como el análisis del ADN o ARN con enzimas de restricción (ER), la hibridación de ácidos nucleicos en cualquiera de sus variantes (*in situ*, en soporte sólido y en soporte líquido), la amplificación de fragmentos genómicos virales mediante reacción en cadena de la polimerasa (RCP), y la secuenciación de ácidos nucleicos, son de las más difundidas actualmente.

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO RÁPIDO

En determinadas ocasiones se necesita conocer con urgencia el agente causal de la patología que se presenta, ya sea porque constituya un peligro para la vida o porque se disponen de soluciones que, tomadas oportunamente, pueden modificar su evolución y pronóstico, y ayudar al control.

Aunque poco práctica, la observación directa del virus puede intentarse mediante microscopia electrónica. Los procedimientos de preparación de las muestras con este fin, son engorrosos y requieren de un personal altamente calificado y entrenado. A veces la microscopia óptica permite observar los daños citológicos que provocan algunos virus en tejidos específicos. Para ello, se realiza tinción histoquímica con colorantes específicos como el de Tzank (HSV), Giemsa (CMV) y Papanicolau (*papillomavirus*).

Varias técnicas para detección de Acs virales, garantizan obtener un diagnóstico en solo pocas horas. Ejemplos de ellas son la inmunofluorescencia directamente aplicada a células epiteliales o a líquidos de vesículas, la técnica de la inmunoperoxidasa en la que las células fijadas se tiñen con un conjugado enzima-anticuerpo monoclonal específico (ejemplo, detección de CMV en linfocitos de sangre periférica), los inmunoensayos de fase sólida (aplicable a múltiples virus: HBV, VIH, HSV, adenovirus, virus de la influenza A, SRV, rotavirus). También se amplía el uso de tiras reactivas de fácil interpretación basado en la detección de anticuerpos específicos en respuesta a la infección viral. Por último, los métodos para la detección de ácidos nucleicos virales (RCP e hibridación) brindan también un diagnóstico rápido y efectivo.

RESUMEN

El diagnóstico de las enfermedades virales parte del reconocimiento de los síndromes clínicos y los elementos epidemiológicos que acompañan a la virosis. Un diagnóstico presuntivo bien orientado ahorrará tiempo y recursos para la toma y procesamiento virológico de las muestras, que deberán ser apropiadamente indicadas y representativas del proceso patológico. El diagnóstico virológico rápido es un arma de mucho valor en situaciones de urgencia, ya sea mediante técnicas para detección de Acs o para detección de Acs. Muchos virus son susceptibles de ser cultivados en uno o más de los sistemas biológicos que se emplean para aislamiento viral: cultivo celular, huevos embrionados y animales de experimentación. En los mismos, la multiplicación viral puede detectarse a partir de diversas técnicas: fijación del complemento, inhibición de la hemaglutinación (IH), inmunofluorescencia (IF), análisis inmuno-enzimáticos y neutralización (Nt). Por otra parte, la detección de Acs específicos y sus títulos en suero (monosueros o sueros pares), aporta información sobre el tipo de infección y, muchas veces, sobre la etapa en que esta se encuentra. Entre las técnicas serológicas más importantes se incluyen: inhibición de la hemaglutinación, neutralización, fijación del complemento (FC), inmunofluorescencia indirecta, ELISA, y Western blot. En las últimas décadas la biología molecular ha abierto nuevos y más específicos métodos diagnósticos para la virología: análisis con enzimas de restricción (ER), reacción en cadena de la polimerasa (RCP), hibridación y secuenciación de ácidos nucleicos virales.

BIBLIOGRAFÍA

- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E: Principles of the Diagnostic Medical Microbiology. *In*: Medical Microbiology, 21ra Ed. Brooks G, Butel J, Ornston N (editores). Appleton and Lange, 1999.
- Knipe D: Virus-Host Cell Interactions. *In*: Fields Virology, 3ra Ed. Fields BN *et al.* (editores). Lippincott-Raven, 1996.
- Koneman EW *et al.*: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott, 1992.
- McIntosh K: Diagnostic Virology. *En*: Fields Virology, 3ra Ed. Fields BN *et al.* (editores). Lippincott Raven, 1996.
- Persing DH: Diagnostic Molecular Microbiology. American Society for Microbiology, 1993.



Parvovirus

Mayling Álvarez Vera
Luis Morier Díaz

INTRODUCCIÓN

Los parvovirus son los virus animales de ADN más sencillos que existen. Infectan roedores, perros, gatos y otros animales y pocas veces se les había involucrado en casos humanos hasta 1983, cuando el agente etiológico del eritema infeccioso o “quinta enfermedad”, fue relacionado con el parvovirus humano B19. A partir de este momento se despertó el interés por estos virus, por las complicaciones que dicha enfermedad puede causar, como la muerte fetal y anemia en pacientes inmunocomprometidos.

La familia *Parvoviridae* comprende dos subfamilias: *Parvovirinae* (infecta vertebrados) y *Densovirinae* (infecta insectos). La subfamilia *Parvovirinae* comprende a su vez tres géneros: *Parvovirus*, *Erythrovirus* y *Dependovirus*. En el Cuadro 58.1 se muestran las características principales de estos tres géneros.

Cuadro 58.1. Composición de la subfamilia *Parvoviridae*

Géneros	Subfamilia <i>Parvoviridae</i> Características principales
<i>Parvovirus</i>	Se replican autónomamente Se encuentran patógenos de enfermedades veterinarias graves como el Parvovirus canino
<i>Erythrovirus</i>	Se replican autónomamente
<i>Dependovirus</i>	El Parvovirus humano B19 es el único miembro de este Contiene miembros defectuosos que dependen de un virus auxiliar (habitualmente un adenovirus) para su replicación No se han vinculado con ninguna enfermedad

PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS MÁS IMPORTANTES DE LA FAMILIA *PARVOVIRIDAE*

Virión: icosaédrico, de 18 a 26 nm de diámetro, 32 capsómeros.
Densidad de flotación: 1,39 a 1,42 g/cm³.

Composición: ADN (20 %), proteína (80 %).

Genoma: ADN monocatenario lineal, 5kb de longitud, PM 1,5 a 2 000 000

Proteínas: Una principal y uno o dos menores.

Envoltura: Ninguna.

Replicación: Nuclear, dependiente de las células hospederas en división.

Características notables: Un género de esta familia es defectuoso en su replicación y requiere un virus auxiliar.

Además de las propiedades principales de esta familia, dichas partículas icosaédricas son muy resistentes a la inactivación, son estables en un pH de tres a nueve y soportan temperaturas hasta de 56 °C durante 60 min. Se pueden inactivar con formalina, β -propiolactona y oxidantes.

Los viriones contienen dos o tres proteínas de cubierta codificadas por una secuencia de ADN sobrepuesta en un marco de lectura. La proteína principal de la cápside (VP2) representa alrededor del 90 % de la proteína del virión.

Existen diferencias entre un parvovirus autónomo y uno defectuoso. Por ejemplo, un virus autónomo contiene un número mayor de pares de base y habitualmente solo contiene en su cápside cadenas de ADN complementarias del mRNA viral, a diferencia mientras que un virus defectuoso tiende a encerrar en la cápside cadenas de ADN de ambas polaridades con igual frecuencia.

EPIDEMIOLOGÍA

El parvovirus B19 está ampliamente propagado, las infecciones pueden ocurrir en cualquier época del año, aunque con más frecuencia durante el invierno o la primavera. En los últimos años se ha observado un patrón de emergencia de brotes de B19, este parece seguir un patrón cíclico de 3 a 4 años con 2 años de alta incidencia seguido por 2 de baja incidencia. Puede presentarse en todos los grupos de edades como brotes o casos esporádicos. Las infecciones ocurren más comúnmente como brotes en escuelas y los anticuerpos se desarrollan con mayor frecuencia entre las edades de 5 a 19 años.

La infección se transmite por medio de secreciones de las vías respiratorias; de ahí que la transferencia entre hermanos sea un modo importante de transmisión y la tasa de ataque entre contactos susceptibles se encuentra entre un 20 y un 40 %. Podemos encontrar B19 también en la sangre del paciente infectado, no hay excreción del virus en las heces o la orina. Además el virus se puede transmitir por vía parenteral, mediante transfusión sanguínea o por productos sanguíneos infectados y verticalmente de la madre al feto.

Pueden ocurrir infecciones nosocomiales entre pacientes hospitalizados y entre el personal médico. Se ha comprobado la transmisión de B19 de pacientes con crisis aplásticas a miembros del personal del hospital. Es probable que estos pacientes sean infectantes durante el curso de la enfermedad, en tanto que aquellos con la quinta enfermedad, ya no sean capaces de hacerlo desde el momento que se inicia el exantema.

Existen evidencias de que el parvovirus humano B19 está implicado en trasplantes de órganos sólidos tales como riñones, corazón e hígado; anteriormente ya había sido reportada su asociación con la glomerulosclerosis en pacientes siclémicos.

También en los últimos 5 años se ha demostrado una fuerte asociación entre el B19 y la artritis reumatoide al encontrarse su ADN en tejido sinovial y médula ósea en pacientes afectados por esta enfermedad. Igualmente es interesante la detección de infecciones de citomegalovirus concomitante con B19 en individuos transfundidos, lo que estimula a continuar los estudios sobre este agente.

PATOGÉNESIS

A partir de estudios realizados en voluntarios se ha podido conocer que el virus aparece en suero de 5 a 7 días después de la inoculación intranasal y que permanece entre 10 y 15 días. Además, se ha observado reticulocitopenia con descenso en la hemoglobina. De 7 a 10 días después de la infección aparecen primero los anticuerpos IgM y luego de 2 ó 3 semanas los IgG acompañado de una disminución notable de la viremia. Estos últimos persisten toda la vida.

En pacientes con deficiencias inmunitarias que no elaboran anticuerpos neutralizantes al parvovirus, tiene lugar la infección persistente y el exantema que acompaña al eritema infeccioso es mediado por un complejo inmunitario.

Una vez que el virus se introduce por la vía respiratoria, este se multiplica primeramente en células del tracto respiratorio, invadiendo posteriormente células eritroides en la médula ósea y genera lisis de las células infectadas, con lo que obstaculiza la producción de eritrocitos. Después de la replicación intensa se produce viremia y, en la segunda etapa, donde las manifestaciones clínicas son más evidentes, el daño parece ser por mecanismos de tipo inmune.

En cultivos de células los parvovirus humanos defectuosos (virus adenoasociados) establecen infecciones latentes en las cuales los virus ADN asociados se integran al genoma celular. Cuando la célula sufre una sobreinfección con un virus auxiliar, el genoma del virus adenoasociado se rescata con facilidad.

CUADRO CLÍNICO

La fase prodrómica del parvovirus humano B19 no es muy específica. En el inicio de la enfermedad se presentan manifestaciones de tipo gripal. Muchas infecciones son subclínicas.

Las manifestaciones clínicas se pueden presentar de las siguientes formas:

Eritema infeccioso (quinta enfermedad). Es la manifestación más común de la infección por parvovirus humano B19. Afecta principalmente a niños en los primeros años de la edad escolar y en ocasiones a los adultos. Los síntomas generales leves pueden acompañar al exantema, el cual presenta el aspecto característico de “mejillas abofeteadas”. En los adultos, la afección de las articulaciones es un rasgo notable; siendo las manos y las rodillas las más afectadas. Por estos síntomas simula una artritis reumatoide y la artropatía puede persistir durante semanas, meses o años.

El período de incubación suele ser de 4 a 14 días, pero puede extenderse hasta 20. La viremia aparece una semana después de la infección y dura hasta 5 días. Durante esta el virus se puede encontrar en muestras de lavado nasal y gargarismos, identificando a la faringe como sitio probable de propagación viral.

A continuación se presentan las dos fases de la enfermedad:

Primera fase:

1. Ocurre al final de la primera semana, coincidiendo con la viremia y con la detección de complejos inmunitarios parvovirus-IgM.
2. Los síntomas son parecidos a los de la gripe e incluyen fiebre, malestar, mialgia, escalofríos y prurito.

Segunda fase:

1. Ocurre después de un período de incubación de casi 17 días.
2. Se caracteriza por un exantema facial eritematoso y otro en forma de cinturón en las extremidades o en el tronco (2 ó 3 días) que puede ir acompañado por síntomas articulares en adultos, los que pueden persistir por largo tiempo.

Crisis aplásticas transitorias. Las crisis aplásticas transitorias causadas por parvovirus humano B19 pueden complicar la anemia hemolítica crónica, por ejemplo, en pacientes con drepanocitemia, talasemia y anemia hemolítica adquirida del adulto. La infección reduce la producción de eritrocitos y disminuye la concentración de hemoglobina en sangre periférica. Esta detención transitoria de la producción de eritrocitos solo se manifiesta en pacientes con anemia hemolítica crónica debido al breve tiempo de vida de sus eritrocitos, a diferencia de una persona normal donde no causa anemia detectable. También se han presentado algunos casos de púrpura trombocitopénica idiopática después de una infección aguda por parvovirus.

Infección en pacientes inmunodeficientes. En pacientes inmunodeficientes el B19 puede establecer infecciones persistentes y causar supresión crónica de la médula ósea y anemia crónica. Esta enfermedad se denomina aplasia pura de eritrocitos y se caracteriza por una anemia grave donde los pacientes dependen de transfusiones sanguíneas. Se ha observado en poblaciones de pacientes con inmunodeficiencia congénita, procesos malignos, SIDA y trasplantes de órganos.

Infeción durante el embarazo. La infección materna con el virus B19 puede plantear un riesgo grave al feto, a veces hidropesía y muerte fetal causadas por anemia grave. El riesgo de infección por este virus durante el embarazo es bajo; la pérdida del feto ocurre en menos del 10 % de los casos de infección materna primaria. La muerte fetal ocurre más comúnmente antes de la semana 20 del embarazo. No hay evidencias de que la infección con el B19 cause anomalías físicas congénitas.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Se basa esencialmente en la detección de anticuerpos IgG e IgM, especialmente estos últimos como más sensible para detectar infección aguda. Las técnicas empleadas son radioinmunoensayo, ELISA, Western Blot. La detección de IgM indica infección reciente y pueden encontrarse hasta 2 ó 3 meses después de la infección. La IgG persiste durante años, aunque puede no ser así en pacientes inmunodeficientes con infección crónica por el B19.

La detección del virus se realiza por hibridación en manchas (Dot Blot) para suero o extractos de tejido, hibridación *in situ* de tejido fijado y reacción en cadena de la polimerasa (RCP). El DNA del B19 se ha detectado en el suero, células sanguíneas, muestras de tejido y secreciones de las vías respiratorias. Además se ha utilizado el antígeno de parvovirus recombinante, producido con el sistema de expresión del baculovirus en análisis de captura para medir anticuerpos.

PREVENCIÓN, CONTROL Y TRATAMIENTO

Hasta el momento no hay disponibles vacunas ni drogas útiles contra el parvovirus humano B19, aunque hay buenas probabilidades de desarrollar una, ya que se conocen vacunas eficaces contra parvovirus animales en gatos, perros y cerdos. Recientemente se ha reportado que una vacuna para B19 está en desarrollo y cuando se concluya, esta podrá ser aplicada a los niños al mismo tiempo que la triple para parotiditis, sarampión y rubéola.

Deben adoptarse medidas para controlar la infección y evitar la transmisión del B19 a los trabajadores de la salud por pacientes con crisis aplásica y por pacientes inmunodeficientes con infección crónica con B19.

El tratamiento tanto de la “quinta enfermedad” como de las crisis aplásica transitoria es sintomático. Se recomienda la aplicación de preparaciones comerciales de inmunoglobulinas que contienen anticuerpos neutralizantes contra el parvovirus humano. Estas preparaciones se utilizan para curar o aliviar las infecciones persistentes por B19 en pacientes inmunodeficientes.

REPLICACIÓN DE LOS PARVOVIRUS

Los parvovirus son muy dependientes de las funciones de la célula para su replicación. La replicación del DNA viral tiene lugar en el núcleo. Para la célula huésped es necesario entrar a la fase S, pero el parvovirus no tiene capacidad de estimular las células en reposo para iniciar la síntesis del DNA.

El ciclo de replicación del parvovirus humano B19 se resume en los siguientes pasos:

1. Unión al antígeno P del eritrocito y penetración.
2. Translocación del DNA viral al núcleo.
3. Transcripción del RNA no estructural.
4. Transcripción del RNA de las proteínas tardías de la cápside.
5. Traducción de las proteínas no separables en el tiempo.
6. Autoensamblado de la cápside.
7. Acción de la proteína no estructural sobre el DNA viral.
8. Translocación de la cápside al núcleo.
9. Replicación del DNA.
10. Introducción del DNA en cápsides intactas.
11. Liberación del virus y lisis celular.

RESUMEN

Los parvovirus son los virus animales de ADN más sencillos que existen y están ampliamente propagados en la naturaleza, ocurriendo por igual en animales y humanos y están agrupados en la familia parvoviridae. El más importante entre ellos es el parvovirus humano B19, ubicado en la subfamilia *Parvovirinae*, género *Erythrovirus*. Entre sus propiedades está: virión icosaédrico de 18 a 26 nm, genoma ADN monocatenario lineal, una proteína principal y dos menores, no presentan envoltura y su replicación es nuclear. El parvovirus humano B19 tiene como célula diana a los eritrocitos, uniéndose a su superficie por medio del antígeno P de los mismos. Este agente se asocia a varios cuadros clínicos que incluyen el eritema infeccioso (quinta enfermedad), artritis aguda, hidropesía y muerte fetal, crisis aplásica transitoria y anemia prolongada en pacientes inmunodeficientes.

Las infecciones por B19 pueden ocurrir en cualquier época del año, aunque con más frecuencia en el invierno o la primavera. Se presentan en todos los grupos etáreos como brotes o casos esporádicos.

La infección se transmite por medio de secreciones de las vías respiratorias. También se puede encontrar B19 en sangre de pacientes, por lo que puede transmitirse por vía parenteral, transfusiones sanguíneas o por productos sanguíneos y verticalmente de la madre al feto.

Su diagnóstico se basa esencialmente en la detección de anticuerpos IgG e IgM. Este último más sensible para definir una infección aguda. Las técnicas más empleadas son radioinmunoensayo, ELISA y Western Blot.

La detección del virus se realiza por Dot Blot para sueros o extractos de tejidos, hibridación *in situ* de tejido fijado y por RCP.

BIBLIOGRAFÍA

- Anand A *et al*: Human parvovirus infection in pregnancy and hydrops fetalis, *N Engl J Med* 1987; 316: 183.
- Bloom M E *et al*: Aleutian mink disease: Puzzles and paradigms. *Infect Agents Dis* 1994; 3:279.
- Brown K E *et al*: Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen) *N Engl J Med* 1994; 330:1192.
- Dollard S., Nasello M and Manegus MA. Serodiagnosis of Parvovirus Infections: Problems and Pitfalls. *Clinical Microbiological Newsletters* 1998; 3: 21-23.
- Centers for Disease Control: Risks associated with human parvovirus B19 infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1989; 38:81.
- Cohen B. Human Parvovirus B19: an expanding spectrum of disease. *British Medical Journal* 1995; 34: 1549-52.
- Collett MS y Young NS: Prospects for a human B19 parvovirus vaccine. *Rev Med Virol* 1994; 4:91.
- Frickhafen N, Young NS: Persistent parvovirus B19 infections in humans. *Microbial Pathogen* 1989; 7:319.
- Hemauer A *et al*: Sequence variability among different parvovirus B19 isolates. *J Gen Virol* 1996; 77:1781.
- Jawetz, Melnick y Adelberg. *Microbiología Médica*. 15 ed. Capítulo 31, 455-60. Manual moderno, México D.F. 1996.
- Jordan J., Tiango B., Kiss J. and Koch W. Human Parvovirus B19: Prevalence of viral DNA, in Volunteer blood donors and clinical outcomes of transfusion recipients. *Vox Sang* 1998; 75: 97-102.
- Keung Y, Chuahirun T and Wesson D. Concomitant Parvovirus B19 and Cytomegalovirus infections after living-related renal transplantation, *Nephrology* 1999; 14: 469-71.
- Langnas A N *et al*: Parvovirus B19 as a possible causative agent of fulminant liver failure and associated aplastic anemia, *Hepatology* 1995; 22: 1661.
- Morier L., Castillo A. y Laferté J. Normalización de un ultramicroELISA para la detección de anticuerpos a Parvovirus humano B19. *Rev Cubana Med Trop* 1994; 46(3): 183-84.
- Parrish C R: Molecular epidemiology of parvoviruses, *Semin virol* 1995; 6: 415.
- Takahashi Y, Murai C, Shibata S, Ishii T, Saitoh T, Sawai Y, *et al*. Human Parvovirus B19 as a causative agent for Rheumatoid arthritis, *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 1998; 95: 8227-32.
- Umene K, Nunove T: Partial nucleotide sequencing and characterization of human parvovirus B19 genome DNAs from damaged human fetuses and from patients with leukemia. *J Med Virol* 1993; 39: 333.
- Young N S. Parvoviruses. *In* *Fields Virology*, 3^{ra} ed. Fields B N *et al*. (editors), Lippincott - Raven, 1996.



Adenovirus

Ángel Goyenechea Hernández
Reynel Cancio Fernández
Tania Pumariega Menéndez

INTRODUCCIÓN

Los *adenovirus* (Adv) fueron cultivados y reportados inicialmente como agentes virales en 1953, cuando Rowe y colaboradores intentaban establecer líneas de cultivos celulares, a partir de tejidos de adenoides y amígdalas extraídos quirúrgicamente a niños. Estos investigadores observaron un cambio citopatogénico característico, producido por un agente transmisible capaz de causar degeneración de las células epiteliales. A este agente causal se le designó “agente degenerador de adenoides”.

Debido a la característica de estos virus de afectar los tejidos linfático y adenoideo, en mayo de 1956 en New York, se decide el nombre de *adenovirus*. Dicho nombre fue aceptado más tarde por la Subcomisión de Virus de la Comisión Internacional de Nomenclatura. Posteriormente en 1976, la sesión plenaria del Comité Internacional de Taxonomía Viral reconoció estos virus dentro de la familia *Adenoviridae*, que incluye dos géneros: *Mastadenovirus* y *Aviadenovirus*, agrupando el primero los agentes virales causantes de infecciones en los mamíferos, y el segundo, en aves.

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

Los adenovirus constituyen partículas virales de un diámetro aproximado de 70 a 110 nm, contienen un 13 % de ácido desoxirribonucleico (ADN) y de un 87 % de proteínas, carecen de envoltura viral y poseen una cápside de simetría regularmente icosaédrica (20 superficies triangulares y 12 vértices). De cada uno de los vértices se proyecta una estructura llamada fibra, cuya longitud varía de acuerdo al serotipo viral.

La cápside está constituida por 252 capsómeros, de los cuales 240 son hexonas y 12 son pentonas. Cada una de las pentonas contiene una base en la superficie de la cápside, y una fibra proyectada de la misma, la cual está rodeada de 5 hexonas. El nombre pentona es derivado de esta relación geométrica. El resto de los capsómeros son hexonas, y deben su nombre al hecho de que cada uno está rodeado de seis estructuras idénticas. Hexonas, pentonas y fibras constituyen los principales antígenos de los adenovirus, importantes para la clasificación viral y el diagnóstico de las enfermedades (Fig. 59. 1).

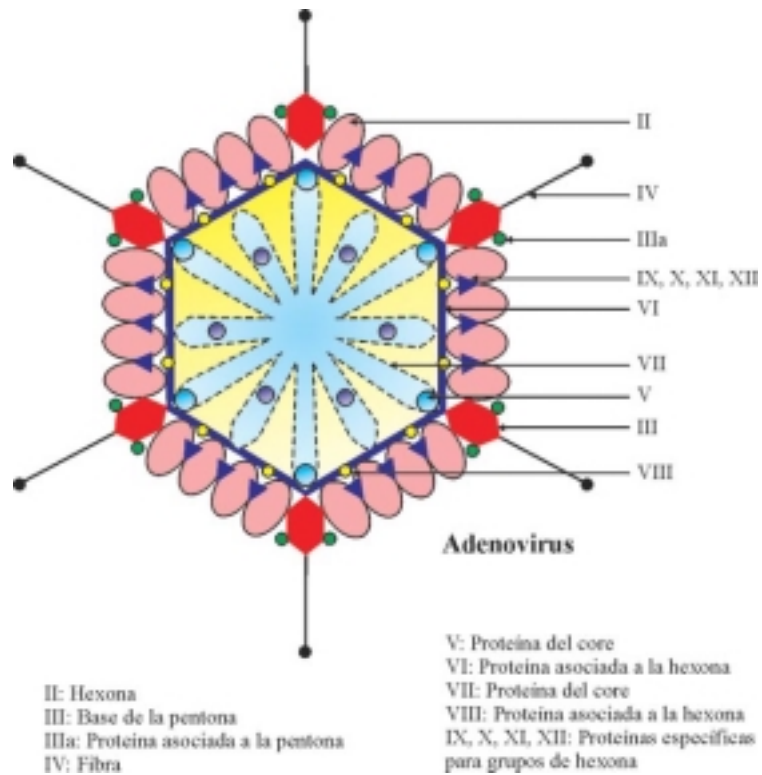


Figura 59.1. Estructura y composición de los adenovirus.

El ADN, de aproximadamente 11 mm de largo y de 20 a 38 kb, constituye una molécula lineal y de doble cadena, con una proteína terminal de 55 kDa codificada por el virus y unida covalentemente al extremo 5' del genoma lineal. La relativa infectividad del ADN viral es reducida, al menos cien veces, si la proteína terminal es eliminada por proteólisis. Estudios de biología molecular han permitido conocer secuencias íntegras del ADN de los genomas de varios tipos de Adv. El contenido G+C de los serotipos oscila entre un 48 y un 61 %, lo que constituye un criterio de clasificación para los adenovirus humanos. Se han obtenido además patrones de restricción típicos de cada serotipo, los que han sido usados como herramienta para el diagnóstico y caracterización de los Adv aislados.

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS PROTEÍNAS VIRALES

PROTEÍNAS ESTRUCTURALES

El número de polipéptidos diferentes ha sido estimado entre 11 y 15. No existe un polipéptido I debido a que la proteína originalmente nombrada así, era una mezcla de pequeñas moléculas, que una vez formada fue difícil de disociar. El polipéptido II es la hexona, proteína de 120 kDa. Asociados a la hexona se encuentran los polipéptidos VI (24 kDa), VIII (13 kDa) y IX (12 kDa). Las pentonas se componen de 5 copias del polipéptido III (85 kDa) y 3 moléculas del polipéptido IV (62 kDa), referidas a la base de la pentona y a la fibra respectivamente, cuya unión no tiene una naturaleza covalente. En el core se encuentran además el polipéptido V (48,5 kDa) que se une a la base de la pentona e interviene en el empaquetamiento del genoma, y el polipéptido VII (18,5 kDa). En la cápside, la proteína III sirve como puente entre el polipéptido VII del núcleo y las hexonas de la cápside. La proteína terminal de 55 kDa se encuentra unida al ADN viral en sus extremos y existe además una proteína μ (4 kDa) cuya localización y función precisa aún se desconocen, aunque recientes estudios la han asociado con el polipéptido X lo cual no está completamente dilucidado.

Los determinantes antigénicos importantes en la clasificación serológica de los adenovirus son inherentes a la hexona, pentona y fibra. La base pentona se comporta como una toxina causando la rápida aparición de efectos citopáticos y el desprendimiento de las células infectadas de la superficie donde ellas crecen. Todos los serotipos de adenovirus humanos muestran un antígeno con reacción cruzada que es portado en la superficie interna del capsómero hexona, aunque este determinante antigénico α también está presente en la hexona soluble que es sintetizada en exceso. Los determinantes ϵ y γ de la hexona y fibra respectivamente, constituyen antígenos tipo específicos presentes en la superficie del virión e inducen la producción de anticuerpos neutralizantes. El determinante γ de la fibra posee además actividad hemaglutinante tipo específica, que se manifiesta tanto en el virión como en los extractos de células infectadas, por lo que esta propiedad se emplea en pruebas de inhibición de la hemaglutinación para tipificar los virus aislados.

PROTEÍNAS NO ESTRUCTURALES

Estas proteínas no son ensambladas en los viriones intactos, y entre ellas se encuentran un polipéptido de 100 kDa: proteína tardía necesaria para el ensamblaje del trímero de la hexona a partir de monómeros; la proteína de unión al ADN (DBP) de 72 kDa, que constituye un producto temprano y necesario para la elongación del ADN viral; y la ADN polimerasa (140 kDa) esencial para la replicación. Otros péptidos importantes son, por ejemplo, un polipéptido de 57 kDa que interviene en la regulación de otras funciones génicas tempranas y constituye además un antígeno tumoral.

CLASIFICACIÓN

La familia *Adenoviridae* comprende dos géneros: *Mastadenovirus* (virus humanos, simios, bovinos, ovinos, equinos, porcinos y caninos) y *Aviadenovirus* (virus aviares). Hasta la fecha han sido reconocidos 49 serotipos, los cuales se han distribuido en seis grupos (Cuadro 59.1) al tener en cuenta sus propiedades físicas, químicas y biológicas tales como: hemaglutinación de hematíes de rata o mono rhesus, oncogenicidad en roedores, composición de bases y homología del ADN, relación de antígenos tumorales (Ag T), longitud de la fibra y perfiles de restricción y patrones de polipéptidos virales.

Cuadro 59.1. Clasificación de los adenovirus humanos

	A	B	C	D	E	F
Serotipos	12, 18, 31	3, 7, 11, 14, 16, 21 34, 35	1, 2, 5, 6	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49	4	40, 41
Grupo hema- glutinante	IV	I	III	II	III	III
Tumores en animales	Alta	Moderada	Escasa o nula	Escasa o nula	Escasa o nula	Desconocida
Transformación de cultivos celulares	+	+	+	+	+	+
% G+C	48-49	50-52	57-59	57-61	57-59	

- I Aglutinación completa de eritrocitos de mono.
- II Aglutinación completa de eritrocitos de rata.
- III Aglutinación parcial de eritrocitos de rata.
- IV No aglutinación.

Luego del descubrimiento de que el adenovirus tipo 12 podía inducir tumores en hámsters, se supo rápidamente que estos virus variaban considerablemente su potencial oncogénico en roedores, por lo que esta expresión biológica variable fue considerada para establecer una nueva clasificación. Se encontró que, generalmente, un bajo contenido G+C se correlacionaba

con la inducción de tumores, como ocurre por ejemplo con los miembros del grupo A (48 %), mientras que los del grupo C con un contenido G+C (58 %) presentan un escaso potencial oncogénico o ninguno.

Los antígenos T excluyen la hexona, la pentona y la fibra; y su definición exacta se limita probablemente a los productos de regiones tempranas E1A y E1B, los cuales están más directamente involucrados en la transformación celular llevada a cabo por los adenovirus. Aunque casi todos los serotipos de adenovirus tienen patrones únicos de clivaje del ADN en dependencia de la endonucleasa de restricción usada, ha sido posible agrupar virus relacionados al comparar algunos fragmentos de ADN comunes.

REPLICACIÓN VIRAL

Los adenovirus humanos crecen bien en cultivos celulares provenientes de carcinoma cervicouterino humano (HeLa), riñón humano (KB) y carcinoma faríngeo humano (Hep-2) entre otras, por lo que estas células se han usado mucho para conocer acerca de la infección lítica de adenovirus, cuyo ciclo replicativo constituye un modelo para el estudio de los procesos eucarióticos, fundamentalmente referentes a la biogénesis del ácido ribonucleico mensajero (ARNm).

El ciclo replicativo consta de eventos tempranos y eventos tardíos, comenzando estos últimos con la síntesis del ADN viral.

ADHESIÓN, PENETRACIÓN Y DESENCAPSIDACIÓN

El virus se adhiere a la célula a través de sus fibras, que interaccionan con un receptor específico de la membrana celular hospedera. Se desconoce si todos los serotipos utilizan el mismo receptor celular. La base de la pentona interacciona con las integrinas celulares promoviendo la penetración del virión a la célula a través de una vesícula endocítica, y una vez dentro, el virus es transportado rápido a lo largo del citoplasma por medio de los túbulos celulares, hacia el núcleo de la célula. La partícula viral comienza a perder su cápside en el citoplasma y libera finalmente su ADN en la membrana nuclear.

EVENTOS TEMPRANOS

Esta etapa se define como la síntesis de ADN y ARNm virales. Los transcritos correspondientes a ambas cadenas del genoma de los Adv portan información de los genes tempranos E1, E2, E3 y E4. El polipéptido E1, que se divide en E1A y E1B, es de especial interés pues la expresión temprana de E1A sugiere una cascada de eventos que controlan la acumulación de ARNm procedentes de los restantes genes tempranos, y codifica para las proteínas involucradas en la transformación celular; la región E1B codifica las proteínas que bloquean la muerte celular o apoptosis provocada por los productos del gen E1A y junto a los productos de la región E4 participan en el no bien dilucidado mecanismo de ensamblaje viral; E2A y E2B, que se expresan coordinadamente, codifican para la proteína de unión al ADN, para la ADN polimerasa y el precursor de la proteína terminal respectivamente, proteínas muy importantes en la replicación del ADN viral. La región E3 no es esencial en cultivo de células, pero juega un papel importante en la regulación de la respuesta del hospedero a la infección por adenovirus, al causar una disminución en el transporte de moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad a la superficie celular y por tanto, un descenso en el reconocimiento de los linfocitos T citotóxicos a la célula infectada.

REPLICACIÓN DEL ADN Y EVENTOS TARDÍOS

Esta etapa tiene lugar en el núcleo celular, donde la proteína terminal viral comienza a actuar como cebador para iniciar la síntesis del ADN viral. El principal promotor tardío controla la expresión de los genes tardíos (L) que codifican las proteínas estructurales virales. Todos los transcritos procesados (con caperuza en el extremo 5' y cola de poliA en el extremo 3') se transportan al citoplasma, donde se sintetizan las proteínas virales.

ENSAMBLAJE DE LOS VIRIONES

Este proceso también ocurre en el núcleo celular y se inicia cuando polipéptidos simples son ensamblados en capsómeros en el citoplasma, interviniendo productos de regiones tempranas ya señaladas (E1B y E4), además de la proteína IX que se cree sea esencial en el ensamblaje.

Los capsómeros se autoensamblan en cápsides completas vacías en el núcleo. El ADN desnudo entra entonces a la cápside preformada por un mecanismo no conocido, seguido por las proteínas del core. Finalmente los precursores son clivados permitiendo a la partícula viral adoptar su configuración. La partícula madura es entonces estable, infecciosa y resistente a las nucleasas. A pesar de esto el proceso de ensamblaje es ineficiente, produciendo algunas partículas vacías desprovistas de ADN y sin muchas proteínas estructurales.

La salida del virión infeccioso se produce por destrucción celular.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

Los adenovirus se replican en la faringe, en las conjuntivas y en el intestino delgado, luego viajan a los ganglios linfáticos cervicales, preauriculares y mesentéricos. Se diseminan por el torrente sanguíneo a todo el organismo, invadiendo órganos viscerales. Infeccionan mucosas y córneas, y a nivel de tejido linfoide pueden permanecer en forma latente para reactivarse en cualquier momento. Los adenovirus entéricos invaden directamente el tubo digestivo, localizándose a nivel de intestino delgado donde producen alteraciones a nivel de la pared, que se traducen en un cuadro diarreico.

Durante el ciclo lítico de muchos serotipos de adenovirus, la síntesis de macromoléculas hospederas es severamente inhibida. La síntesis del ADN y proteínas celulares, así como el procesamiento de los ARNm es también interrumpida lo que afecta la sobrevivencia de la célula. Las células infectadas degeneran en vías específicas que ayudan al diagnóstico del patólogo al examinar biopsias y autopsias.

Se ha visto que la pentona tiene un efecto tóxico directo sobre las células; al añadir pentona a una monocapa celular *in vitro* se produce desprendimiento celular y destrucción de la misma. *In vivo*, este efecto tóxico no está bien determinado, pero se ha encontrado pentona en sangre en casos fallecidos por neumonías por adenovirus y aunque las toxinas producidas por virus son poco comunes, esta podría ser una excepción de la generalización.

A nivel pulmonar, los daños celulares provocan a nivel tisular bronquitis necrotizante, bronquiolitis y neumonía intersticial, caracterizándose los síndromes pulmonares por adenovirus por la presencia de fibrina y membranas hialinas a través de los alvéolos.

PATOGENICIDAD EN ANIMALES

La mayoría de los adenovirus humanos no inducen enfermedades clínicamente aparentes en animales de laboratorio, pero la inoculación endovenosa en ratones adultos con el serotipo 5, provoca muerte de estos animales entre 3 y 4 días, y la inoculación subcutánea de hámsters recién nacidos, con el mismo inmunotipo, causa infecciones fatales fundamentalmente entre 4 y 10 días después. Las inoculaciones en el tracto respiratorio también producen infecciones inaparentes, en estas circunstancias no se observa persistencia del virus. Inoculaciones subcutáneas de hámsters recién nacidos, ratas y ratones, con los tipos 11, 12, 13, 18, 21 y 31 resulta en la formación de tumores en el sitio de inoculación, después de un período de incubación prolongado.

A pesar de que los animales de laboratorio no se emplean en el diagnóstico de laboratorio de esta infección viral, ellos constituyen excelentes modelos para el estudio de diferentes propiedades biológicas e inmunológicas asociadas con esta familia.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los adenovirus pueden infectar y replicarse en varios sitios del tracto respiratorio, así como en los ojos, sistema gastrointestinal, genitourinario y sistema nervioso central (SNC).

Muchas de estas infecciones son subclínicas y resultan en la formación de anticuerpos (Ac) que son probablemente protectores contra la reinfección exógena de los mismos serotipos de adenovirus. Sin embargo, los virus pueden crecer y continuar multiplicándose, en los tractos gastrointestinal y respiratorios fundamentalmente, por meses después de la infección y de la respuesta inmune. Es de destacar que un solo serotipo puede causar diferentes enfermedades clínicas, y además, más de un tipo pueden causar la misma enfermedad clínica. Las patologías más frecuentes asociadas a adenovirus se describen en el Cuadro 59.2.

Cuadro 59.2. Cuadro clínico asociados a los diferentes serotipos de adenovirus

Serotipos	Enfermedad	Individuos de riesgo
1-3; 5-7	Faringitis aguda	Lactantes, niños pequeños
3, 7, 14	Fiebre faringoconjuntival	Niños en edad escolar
3, 4, 7, 14, 21	IRA	Reclutas militares
1-3, 7	Neumonía	Lactantes, niños pequeños
4, 7	Neumonía	Reclutas militares
8, 11, 19, 37	Queratoconjuntivitis epidémica	Todas las edades
5	Síndrome similar al pertussi	Lactantes, niños pequeños
11, 21	Cistitis hemorrágica aguda	Lactantes, niños pequeños
40, 41	Gastroenteritis	Niños pequeños, pacientes inmunodeprimidos
1, 2, 5	Hepatitis	Niños pequeños, trasplantes hepáticos
43-49	Amplia gama de infecciones	Pacientes SIDA y otras inmunosupresiones
34, 35	Persistencia viral en tracto Genitourinario y gastrointestinal	Pacientes SIDA y otras inmunosupresiones

SISTEMA RESPIRATORIO

Se destacan fundamentalmente la afección de niños pequeños. Los síntomas usuales incluyen congestión nasal, coriza y tos, que a menudo son acompañados de manifestaciones sistémicas tales como malestar general, fiebre, resfriados, mialgia y dolor de cabeza. Los serotipos 1, 2, 5 y 6 constituyen los más frecuentes causantes de estos padecimientos, y ocasionalmente el serotipo 3, los cuales son usualmente endémicos en muchas poblaciones.

Los casos esporádicos pueden ser indistinguibles de otras infecciones respiratorias virales causadas por influenza, parainfluenza y virus sincitial respiratorio. Si además de los síntomas ya descritos se presenta conjuntivitis, la enfermedad es designada como fiebre faringoconjuntival, donde la afección ocular es generalmente, de carácter benigno, y es causado por los serotipos 3, 7, y 14.

Y en menor medida, infección respiratoria aguda (IRA) en reclutas, militares jóvenes. Los síntomas son, generalmente, semejantes a los descritos para los niños, son causados fundamentalmente por los serotipos 4 y 7, en ocasiones por el 3, y tienden a ocurrir bajo condiciones de fatiga y hacinamiento.

Síndrome similar al pertussis o coqueluchoide. Se manifiesta fundamentalmente en lactantes, siendo el serotipo 5 uno de los responsables de este síndrome.

Neumonía. Puede presentarse en niños pequeños, siendo los adenovirus probablemente responsables del 10 % de las neumonías en la niñez. También puede presentarse como una complicación de IRA en reclutas militares, siendo los serotipos 1, 2, 3, 4, y 7 los más frecuentes. Muchos pacientes se recuperan de estas afecciones de las vías respiratorias bajas, pero han habido epidemias de adenovirus tipo 7 que han resultado en una considerable mortalidad.

INFECCIONES OCULARES

La conjuntivitis folicular puede ocurrir como parte de un síndrome respiratorio-faríngeo (fiebre faringoconjuntival) o como una entidad separada (conjuntivitis folicular aguda). Puede presentarse de forma bilateral y es a menudo acompañada de linfadenopatía preauricular.

Como sintomatología local se observa lagrimeo, prurito, fotofobia, sensación de cuerpo extraño ocular y enrojecimiento de la conjuntiva.

La conjuntivitis aguda dura dos semanas, aunque la queratitis puede persistir y dejar opacidades discretas que pueden entorpecer la visión.

En niños este cuadro se acompaña de sintomatología general. Estas manifestaciones son debidas a los tipos 3 y 7, aunque se han asociado también con los serotipos 1, 2, 4, 6, 9, 10, 11, 15, 16, 17, 20 y 22.

La *queratoconjuntivitis epidémica*, enfermedad más seria y altamente contagiosa, posee un período de incubación de 8 a 10 días. La enfermedad se inicia con una conjuntivitis folicular con edema de los párpados, dolor, lagrimeo y fotofobia. Como complicación conjuntival se exhiben infiltrados subepiteliales de la córnea con hemorragias petequiales. El serotipo 8 constituye el agente causal, aunque entre 1973 y 1976 el adenovirus 19 fue el más común. Sin embargo, a partir de 1977 el serotipo 37 ha sido la causa predominante.

SISTEMA GASTROINTESTINAL

Diarrea. Su asociación a las diarreas ha sido aclarada recientemente, debido a que muchos adenovirus se replican eficientemente en el intestino y son excretados en las heces. Han sido reportados como causantes de gastroenteritis entre un 7 y un 17 % de todas las infecciones intestinales en niños, habiendo poblaciones donde el 50 % a los 4 años de edad tienen Ac contra adenovirus entéricos, siendo superados solamente por los rotavirus como causa de diarreas en infantes. Los serotipos asociados a esta identidad son los adenovirus 40 y 41. Recientemente se ha notado cierta homología estructural entre la proteína E1B del adenovirus tipo 12 y un componente α -gliadina, activador reconocido de la enfermedad celíaca. Esto sugiere que dicha proteína viral encontrada en el intestino puede desempeñar una función importante en la patogénesis de tales enfermedades celíacas, quizás por inducción de Ac contra la α -gliadina, por reacción cruzada.

OTRAS ENFERMEDADES

La *cistitis hemorrágica aguda* es una enfermedad que ocurre casi exclusivamente en niños varones, caracterizada por una abundante hematuria y disuria ha sido asociada con el adenovirus tipo 11. A menudo confundida con otras manifestaciones clínicas renales como la glomerulonefritis, es una afección autolimitada y no está usualmente acompañada de fiebre o hipertensión arterial. También ha sido asociada con el serotipo 21.

Es muy raro el aislamiento de cualquier adenovirus del cerebro y del líquido cefalorraquídeo (LCR), sin embargo, se ha reportado el serotipo 8 como causante de *meningoencefalitis viral*. También se han asociado los adenovirus 3, 5, 6, 7, 7a y 12, encontrándose un caso de sordera unilateral repentina causada por una infección por el serotipo 3 en la nasofaringe.

INFECCIONES ASOCIADAS CON PACIENTES INMUNOCOMPROMETIDOS

A pesar que los adenovirus no son tan prevalentes como los herpesvirus durante condiciones de inmunosupresión, estos agentes virales han sido aislados de pacientes inmunocomprometidos los cuales han contribuido a su morbilidad y mortalidad.

Se han presentado neumonías, anormalidades hepáticas, fallos respiratorios o hepáticos, siendo los serotipos más frecuentes, los adenovirus 1, 2, 5, y 6 en niños, y el tipo 4 en adultos; lo que implica que estos pacientes pueden no ser más comúnmente infectados con adenovirus que pacientes normales, pero cuyas consecuencias son más serias y más fatales. Se ha demostrado que el 12 % de los pacientes norteamericanos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) poseen un adenovirus específico en su orina. Análisis por endonucleasas de restricción y ensayos serológicos han mostrado la presencia del adenovirus 35. De estos pacientes infectados con adenovirus, el 45 % aproximadamente terminan con la muerte en un período de dos meses.

Un aspecto de vital importancia en estos pacientes resulta ser la persistencia viral, lo que pudiera explicar las reinfecciones a partir de una fuente endógena, aunque en algunos receptores de trasplantes, la infección parece haber sido exógenamente adquirida a través del órgano donado. La integración estable de parte del genoma viral en el cromosoma del hospedero, por medio de una unión covalente, es el mecanismo más ampliamente usado.

INMUNIDAD

Los adenovirus inducen una inmunidad eficaz y persistente contra la reinfección, lo que pudiera deberse al hecho de que estos virus infectan ganglios linfáticos regionales y las células linfoides en el conducto gastrointestinal. La presencia de anticuerpos neutralizantes circulantes tipo específicos no siempre evitan la reinfección, a pesar de que pueden proteger contra los síntomas de la enfermedad. Aproximadamente el 50 % de los lactantes se encuentran protegidos de la infección respiratoria grave por la acción de los anticuerpos neutralizantes maternos, y alrededor de 40 a 60 % de las personas comprendidas entre 6 y 15 años, poseen anticuerpos neutralizantes contra los serotipos del grupo C, aunque los anticuerpos contra los serotipos 3, 4 y 7 son menos prevalentes.

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO

COLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La toma de muestras de sitios afectados tempranamente en el período de la enfermedad, es necesaria para optimizar el aislamiento viral y la determinación de antígenos o ácido nucleico de adenovirus directamente de muestras clínicas. En dependencia de la manifestación clínica que se presente, la muestra se puede tomar de exudados faríngeos, lavados nasales, exudados o raspados conjuntivales, raspado anal, orina, LCR y tejidos de biopsias o autopsias, las cuales se mantienen en medios de transporte que contienen medio de cultivo, estabilizadores y antibióticos. Todos estos componentes estabilizan los adenovirus e inhiben a las bacterias y hongos presentes en la muestra, que debe transportarse a 4 °C.

Para el diagnóstico serológico, es necesario la toma de sueros pareados; el primero se colecta lo más cerca posible al inicio de los síntomas, y el segundo, de dos a tres semanas después. Los sueros también deberán transportarse a 4 °C y conservarse a -20 °C hasta su uso.

MICROSCOPIA DIRECTA DE MUESTRAS CLÍNICAS

El diagnóstico rápido por examen directo de la citopatología de células exfoliadas no ha sido completamente satisfactorio. En las tinciones, es apreciable el ensamblaje de adenovirus en el núcleo de las células infectadas, por lo que los cambios morfológicos nucleares pueden ser usados para el diagnóstico. Las proteínas virales son sintetizadas en el citoplasma, donde algunas de ellas se acumulan y pueden ser reconocidas por técnicas inmunológicas. Los cambios nucleares después de la infección por adenovirus 1, 2 y 5, incluyen inclusiones intranucleares que inicialmente son Feulgen-negativas y eosinofílicas, pero a medida que la infección progresa se vuelven Feulgen-positivas y basófilas.

AISLAMIENTO VIRAL

El crecimiento viral de muestras de pacientes se obtienen eficientemente en células de origen humano. Las células embrionarias de riñón humano (HEK) son probablemente el mejor hospedero para la replicación de todos los adenovirus humanos. Sin embargo, las líneas epiteliales continuas Hep-2, HeLa y KB son muy sensibles, aunque difíciles de mantener por un largo período de tiempo (28 días) que es el requerido para aislar cepas oculares de adenovirus.

La rapidez con que aparece el efecto citopático (ECP) depende del serotipo y de la concentración de virus infeccioso en la muestra. Este ECP, que consiste en redondeamiento, agrandamiento, refringencia y agrupación de células infectadas formando grupos que semejan «racimos de uvas», se inicia en la periferia de la monocapa y posteriormente se disemina, aunque algunos adenovirus del grupo B no causan agrupación celular. Estos virus además aumentan la glucólisis en las células de líneas continuas e inducen en las mismas grandes cantidades de ácido. Por otra parte, el ECP rápido puede ser inducido pocas horas después de la inoculación de preparaciones virales concentradas y no estar relacionada con la replicación viral, y en tales casos puede ser causado por citotoxicidad de capsómeros virales de pentonas libres que son producidas en grandes cantidades para el ensamblaje viral.

IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS

Entre los métodos serológicos útiles para la caracterización de los adenovirus se encuentran los ensayos de inmunofluorescencia (IF) y de fijación de complemento (FC'), los cuales usando material de cultivo de células como antígenos, miden características de familia de los adenovirus compartidas por todos los aislamientos humanos. La inhibición de la hemaglutinación (IHA) y la neutralización (Nt) también miden parámetros tipo específicos que pueden distinguir miembros de cada grupo, además de existir otras técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) muy usadas.

La IF al utilizar suero hiperinmune contra cualquier serotipo de adenovirus puede ser también usada para confirmar la característica de grupo de un aislamiento clínico. Recientemente, anticuerpos monoclonales (AcM) tipo-específicos que pudieran ser usados en IF, ELISA y aglutinación por látex, han sido utilizados para la diferenciación de los adenovirus entéricos 40 y 41 presentes en las heces.

Los agentes identificados como adenovirus son testados por su capacidad de hemaglutinar células de rata o de mono *rhesus*. Como resultado, estos virus se dividen en cuatro grupos (ver Cuadro 59.1). El patrón hemaglutinante completo resulta del ensamblaje de capsómeros pentona monoméricos (pentona base y fibra) en una conformación de 12 proteínas agrupadas, o de la interacción de hematíes apropiados con la pentona en el virión. Sin embargo, en el caso del grupo III, no existe tal agrupación y, por tanto, la pentona monomérica producida en exceso bloquea el patrón completo hemaglutinante en el virión. Una vez clasificado el agente en un grupo, se pueden usar Ac tipo-específicos para inhibir la aglutinación, siendo esta reacción específica y ampliamente difundida.

Existen otras propiedades de los virus que pueden ser explotadas para la identificación de un aislamiento y para el tipaje de subgrupo. La caracterización del ADN viral por hibridación o análisis con endonucleasas de restricción (ER), han sido usadas para complementar la identificación de aislamientos clínicos. En el caso de la familia *Adenoviridae*, la digestión del ADN con ER se ha aplicado fundamentalmente en la taxonomía, estudios de epidemiología molecular y tipificación de cepas de adenovirus, puesto que el análisis de diferentes patrones de restricción ha permitido determinar la relación genética de los Adv humanos. Adrian y colaboradores, en 1986, establecieron patrones de restricción de referencia para un amplio rango de tipos de adenovirus, lo cual ha permitido el uso mantenido de esta técnica y su introducción en laboratorios de diagnóstico. La reacción en cadena de polimerasa (RCP) constituye otra de las herramientas de la biología molecular que han contribuido al diagnóstico rápido y caracterización molecular de las cepas aisladas, ya sea empleando cebadores de regiones conservadas y compartidas entre todos los adenovirus, así como cebadores de regiones específicas del genoma de algunos serotipos en particular, contribuyendo a los estudios de epidemiología molecular.

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

Para la determinación de los Ac contra estos virus las técnicas más frecuentemente utilizadas son: Nt, FC', IH. La confirmación del diagnóstico por este método se basa en el aumento cuádruple de los Ac en el suero del convaleciente con respecto a la fase aguda, en una seroconversión.

EPIDEMIOLOGÍA

DISTRIBUCIÓN

Las infecciones por adenovirus ocurren en todo el mundo, afectan tanto a niños como a adultos, pudiendo un solo serotipo causar enfermedades diferentes e inversamente, más de un serotipo causar la misma enfermedad, presentándose tanto casos epidémicos como esporádicos.

La mayoría de las enfermedades relacionadas con estos virus no son clínicamente patognomónicas por lo que las patologías producidas por ellos pueden ser confundidas con un largo número de otras, y es debido a esto que los datos epidemiológicos de las infecciones por adenovirus provienen de estudios en los cuales se ha demostrado la identidad de estos agentes virales infectantes.

Estudios clínicos prospectivos de monitoreo, han permitido conocer la incidencia y espectro clínico de las enfermedades esporádicas producidas por estos virus, y han brindado conocimiento acerca de la recurrencia en la excreción, que ocurre fundamentalmente en los serotipos habitualmente endémicos 1, 2, 3 y 5 aislados de heces. Las infecciones asintomáticas se observan con frecuencia.

Los patrones de transmisión de la infección por adenovirus varían desde infecciones esporádicas hasta epidémicas, estos patrones se correlacionan muy bien tanto con el serotipo viral involucrado como con la edad de la población susceptible. Estudios serológicos han demostrado que los Ac a los serotipos 1, 2, 5, y 6 son los más comúnmente hallados en niños, con un 60 %, lo cual explicaría la baja frecuencia de infección de estos serotipos en adultos. Por otra parte, la incidencia de Ac a los serotipos 3, 4, y 7 es baja en niños.

La fiebre faringoconjuntival, la queratoconjuntivitis epidémica y las IRA en reclutas ocurren, generalmente, en forma epidémica, siendo responsables los adenovirus del 72 % de todas las enfermedades respiratorias durante el invierno, principalmente en reclutas donde las condiciones de hacinamiento y fatiga favorecen la diseminación viral en esta población. En el caso de las conjuntivitis (causadas por los serotipos 3 y 7) se ha observado su mayor incidencia durante el verano, sin haberse establecido estacionalidad para las producidas por el grupo D (serotipos 8, 19 y 37 relacionados con la queratoconjuntivitis epidémica).

Muchos de los síndromes causados por adenovirus son ocasionados por infecciones nosocomiales, reportándose el aislamiento de un adenovirus fastidioso, en casos de niños con gastroenteritis ingresados en salas de pediatría, lo que sugiere una transmisión intrahospitalaria de la enfermedad.

RESERVORIO

De forma general, los adenovirus humanos no son patógenos para los animales, por lo que el hombre constituye el único reservorio, pudiendo permanecer algunos serotipos de forma latente en amígdalas y adenoides.

MODO DE TRANSMISIÓN

La conjuntivitis y las enfermedades respiratorias se transmiten por contacto directo con secreciones oculares y gotitas de flugge respectivamente, de una persona infectada a otra, o indirectamente con instrumentos o soluciones contaminadas. En las IRA desempeña una función fundamental la inhalación de secreciones aerolizadas, mientras que en niños pequeños infectados por adenovirus, la transmisión fecal-oral es la más común de las vías de transmisión, pues la prolongada estancia de estos virus en el intestino hace de las heces la fuente más común de excreción intermitente y durante la infección aguda.

PERÍODO DE INCUBACIÓN

El período de incubación oscila entre 3 y 12 días y varía de una entidad clínica a otra.

PERÍODO DE TRANSMISIBILIDAD

El período de transmisión también depende de los diferentes síndromes causados por adenovirus, siendo en el caso de las IRA días antes y durante la enfermedad activa. En caso de las conjuntivitis, transcurre desde finales del período de incubación hasta aproximadamente 5 días después del comienzo de la enfermedad.

SUSCEPTIBILIDAD Y RESISTENCIA

Toda la población es susceptible, aunque las IRA son más frecuentes y severas en niños y ancianos, considerándose además los reclutas como un grupo importante de riesgo con una excepcional susceptibilidad a algunos serotipos. Los lactantes constituyen el grupo principal de afección de los serotipos entéricos. La queratoconjuntivitis epidémica causada por adenovirus 8 suele producir una inmunidad completa aunque con otros adenovirus se puede presentar una conjuntivitis similar con queratitis menor. La incidencia de infección por adenovirus en pacientes inmunodeprimidos (trasplantados y pacientes SIDA) es mayor en niños que en adultos. En general, los adenovirus inducen una inmunidad eficaz y persistente contra la reinfección, aunque la presencia de los Ac neutralizantes no siempre la evitan.

TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL

El control o tratamiento con compuestos antivirales, interferón, o inductores de interferón no han mostrado hasta el momento valores prácticos. El ribavirín ha sido usado intravenosamente en un caso de cistitis hemorrágica, siendo al parecer exitoso. La queratoconjuntivitis ha sido tratada con antivirales específicos durante la fase aguda inflamatoria, y el efecto de la terapia fue evaluado tanto en los síntomas agudos como en las secuelas crónicas corneales. Por otra parte, la iododeoxyuridina y la adenina arabinosa, las cuales inhiben la replicación de los virus de la familia de los herpes, no tuvieron resultados satisfactorios en el tratamiento de la queratoconjuntivitis epidémica inducida por los adenovirus. Sin embargo, un reporte sugirió que el interferón humano β por vía tópica podría dar un efecto beneficioso. Dos nucleósidos análogos con una actividad potente y acción inhibitoria no tóxica de la replicación de los adenovirus en cultivos de fibroblastos embrionario humano han sido recientemente reportados. No han sido usados antivirales para el tratamiento de síndromes respiratorios inducidos por lo adenovirus, incluyendo la neumonía. Cuando estas enfermedades ocurren esporádicamente, se hace difícil diagnosticarla entre enfermedades similares causadas por otros virus RNA respiratorios, por lo que en las unidades militares donde resulta fácil diagnosticar las epidemias de neumonía causadas por los adenovirus, el control se ha dirigido a la vacunación de dicho personal de riesgo.

Debido a las interrupciones e impacto económico de las epidemias de IRA en reclutas militares, muchos de los esfuerzos en el desarrollo de vacunas adenovirales humanas han sido dirigidas a esta población.

Después de varios intentos, los mejores resultados fueron obtenidos con una vacuna de virus vivo atenuado administrada por vía oral. Este candidato vacunal fue basado en la teoría de introducir el virus en el tracto gastrointestinal evitando su paso por el tracto respiratorio, y lograr la multiplicación viral a nivel de intestino conllevando al individuo a adquirir una inmunidad sólida sin sufrir alguna enfermedad respiratoria. Con este propósito, los adenovirus crecidos en líneas celulares humanas fueron colocadas en cápsulas entéricas recubiertas con gelatina y de esta forma se logró inmunizar las poblaciones de reclutas militares. Sin embargo, cuando se inmunizaba con adenovirus 4, se producían epidemias por adenovirus 7, por lo que se hizo necesario la inmunización bivalente para controlar satisfactoriamente ambos virus. Aunque estas vacunas son comúnmente usadas en los militares, no están licenciadas para ser administradas en civiles y, por tanto, tampoco son usadas en niños susceptibles. La infección entérica con la cepa vacunal es asintomática y resulta en una buena respuesta de anticuerpos neutralizantes. El uso de las vacunas de adenovirus no ha sido extendido en niños menores de 5 años, cuya incidencia de infecciones respiratorias relacionadas con estos virus es de un 5 %. Los adenovirus comunes 1, 2, y 5, los cuales

infectan los niños, no han sido atenuados pues las cepas pudieran diseminarse y causar enfermedad en los contactos de los individuos vacunados; además la ausencia de atenuación y la aprehensión relacionada con el potencial oncogénico de los adenovirus ha interferido su uso general como vacuna de rutina en la niñez. Recientemente se han utilizado los adenovirus como vectores para llevar a cabo terapias génicas contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus de la hepatitis B (VHB).

Las medidas de control a tomar dependen de la patología ocasionada por el serotipo de adenovirus causante de la infección, de esta forma ante casos de conjuntivitis por adenovirus se deben tomar las siguientes medidas preventivas:

1. Evitar el empleo en común de medicamentos oculares, cuentagotas, instrumentos, toallas, etc.
2. En los procedimientos oftalmológicos en dispensarios, consultorios y clínicas, debe incluirse el riguroso lavado de las manos antes de examinar a cada paciente, y la esterilización sistemática de los instrumentos después de su empleo. Se debe evitar que el personal médico con conjuntivitis manifiesta entre en contacto con los pacientes.
3. Usar lentes protectores en las instalaciones industriales.
4. Educar a la población sobre las prácticas de uso personal, adecuada manipulación de alimentos, y alertar acerca del peligro del uso de toallas en común y artículos de tocador.

Por otra parte, debido a la rápida, efectiva y fácil diseminación de estos agentes virales, cobra vital importancia el establecimiento de medidas de control epidemiológicas ante la ocurrencia de casos esporádicos o epidémicos de infecciones respiratorias, tales como:

1. Educar a la población en normas de higiene personal, realizar un lavado de manos frecuente, tapado de la boca ante tos y estornudo.
2. Siempre que sea posible, evitar el amontonamiento en cuartos de dormir y salas, especialmente en instituciones, con el objetivo de proveer una adecuada ventilación.
3. Las vacunas orales de adenovirus vivos han sido efectivas contra infecciones de adenovirus 4, 7 y 21 en reclutas militares, pero no son indicadas en poblaciones civiles debido a la baja incidencia de enfermedades específicas.
4. Evitar fumar en casa con niños cuyo riesgo de contraer neumonías incrementa cuando son expuestos a fumar de forma pasiva.

ADENOVIRUS EN CUBA

En 1964 se comenzaron los primeros estudios de adenovirus en Cuba, realizándose una investigación para determinar anticuerpos fijadores de complemento en una población infantil menor de 5 años; iniciándose más tarde en 1965, la vigilancia seroepidemiológica de las infecciones respiratorias agudas en el país mediante el estudio de sueros pareados, la cual se mantiene hasta la fecha. Conjuntamente se implantó una vigilancia activa para estudios etiológicos por aislamiento y posteriormente por diagnóstico rápido por inmunofluorescencia en brotes de conjuntivitis folicular, queratoconjuntivitis, fiebre faringoconjuntival y en pacientes donde se sospechaba una patología causada por adenovirus. Con el desarrollo de las técnicas de biología molecular, se introdujo en el laboratorio el análisis con enzimas de restricción para tipificar los adenovirus aislados tanto de infecciones respiratorias como de infecciones oculares. Como resultado de esta vigilancia se ha podido determinar la importancia de los adenovirus en las patologías estudiadas, así como establecer la incidencia y circulación de los diferentes serotipos causantes de infecciones respiratorias y oculares en nuestro país, obteniéndose resultados similares a los reportados por otros investigadores en el mundo. De los estudios realizados a lo largo de estos años han resultado como adenovirus más frecuentes, los serotipos 1, 6 y 2 como agentes causantes de las IRA en niños menores de 5 años con una mayor incidencia en los varones, y los serotipos 37 (dos variantes genómicas), 3 y 7 como agentes etiológicos de las infecciones oculares, demostrando un comportamiento típico en la circulación de estos virus que responde a características geográficas y climáticas de nuestro país.

RESUMEN

La familia *Adenoviridae* consta de dos géneros: *Mastadenovirus* (virus con un hospedero mamífero) y *Aviadenovirus* (virus con un hospedero aviar), y agrupa a virus no envueltos, con un tamaño aproximado de 70 a 110 nm, simetría regularmente icosaédrica y un genoma ADN lineal y de doble cadena. Los *adenovirus* humanos fueron detectados por primera vez, en adenoides humanas por Rowe y colaboradores en 1953. Hasta la fecha han sido reconocidos 49 serotipos que han sido agrupados en seis géneros (A-F) atendiendo a características biológicas, inmunoquímicas y bioquímicas. Diferentes grupos fueron identificados sobre la base de las propiedades hemaglutinantes y reacciones serológicas; y han sido categorizados además de acuerdo con sus potenciales oncogénico y transformador de células, y a su homología del ADN. Los adenovirus humanos constituyen una causa significativa de morbilidad y pueden causar mortalidad en todos los grupos de edades. Estos virus infectan y se replican en muchos tipos de células y sitios del organismo humano, incluyendo los ojos, los tractos respiratorios, gastrointestinal, urinario y el hígado. Las enfermedades asociadas con adenovirus incluyen queratoconjuntivitis epidémica, faringitis, síndrome "pertussis-like", neumonía, cistitis hemorrágica aguda, gastroenteritis y hepatitis. En pacientes inmunocomprometidos, han sido reportados casos de neumonía y hepatitis para un 60 % y un 50 % de casos de fatalidad respectivamente. Numerosos métodos han sido empleados para el diagnóstico de las infecciones por adenovirus, abarcando desde el aislamiento viral en cultivo de tejidos, fijación de complemento, sistemas inmunoenzimáticos como inmunofluorescencia, ELISA, neutralización, hasta técnicas de biología molecular como la hibridación *in situ*, el análisis de restricción y la reacción en cadena de la polimerasa. Los adenovirus se encuentran distribuidos ampliamente en el mundo y pueden infectar cualquier grupo de edades. Hasta la fecha, se han realizado varios ensayos con drogas antivirales con resultados no muy satisfactorios, y se cuenta con una vacuna contra dos serotipos causantes de infecciones respiratorias solo administrable en reclutas militares, por lo que las medidas de prevención y control cobran una vital importancia para evitar la diseminación de estos agentes virales.

BIBLIOGRAFÍA

- Baun FG. Adenovirus disease. *In*: Wyngarden JB, Smith LH, Benett JC. Cecil Textbook of Medicine 19th ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1992:1819.
- Bello M, Goyenechea A, Pérez MT, Díaz O, García A. Diagnóstico rápido por inmunofluorescencia en niños hospitalizados por infección respiratoria aguda (IRA). *Rev Cub Ped* 1990;62 (5):755.
- Bello M, Goyenechea A, Ruiz N, Pérez MT. Estudio serológico en sueros pareados con antígenos de virus RS y adenovirus. *Bol Epidem I.N.H.E.M.*1982; 4:8.
- Benenson AS. Control of communicable disease manual. Sixteenth Edition, 1995.
- Cancio R, Savón C, Oropesa S, Abreu I, Pérez T, Hernández B, González G, Valdés O, Goyenechea A. Diagnóstico rápido de los principales virus respiratorios en Ciudad de La Habana, 1995–1997. *Rev Argentina de Microbiología.* 2000;32:21.
- Dobrew I, Goyenechea A, Más P. Estudio serológico de la distribución de los adenovirus tipos 3, 7, 9, 11, 13, 15, 16, 17, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27. *Bol Hig Epid* 1971;(2) y (3):105.
- . Estudio serológico para inhibición de la hemaglutinación a los Adenovirus 1, 2, 4, 5, 6. *Bol Hig Epid* 1968;6:37.
- Dolin R. Common viral respiratory infections. *In*: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KS, Peredrof RG, Martin JB, Fauci AS et al, eds. Harrison's. Principles of internal medicine 14 ed Madrid McGraw-Hill, Inc; 1998.
- Goyenechea A, Bello M, Savón C, Maza AM, Borges G. Estudio serológico para determinar circulación de virus respiratorios en Ciudad de La Habana. *Rev Cub Med Trop* 1992;44 (3):198.
- Goyenechea, A. Anticuerpos fijadores del complemento a los adenovirus en la población infantil menor de 5 años. *Bol Hig Epid* 1965;3:26.
- Horwitz MS. Adenoviruses. *In*: Fields MR, Knipe DM, Chanock RM, eds. Virology. New York: Raven Press; 1990. p.1679-1742.
- Jawetz E, Melnick, Adelberg E. Adenovirus. *In*: Microbiología clínica 14 ed. México. S.A. de C.V, 1992.
- Laferté J, Savón C, Goyenechea A, Otero A, Tejero Y, Hernández B. Estimación de título de anticuerpos IgG a adenovirus utilizando una curva patrón y un ensayo de ultramicroelisa indirecto. *Rev Cub Med Trop* 1996; 48(2):102.
- Li Q, Wadell G The degree of genetic variability among adenovirus type 4 strains isolated from man and chimpanzee. *Arc Virol* 1988;101:65-79.
- Murray P, Drew W, Kobayashi G, Thompson J. Microbiología Médica. Esp: Mosby-Year-Book de España 1992;491-99.

- Rosen I. A hemagglutination-inhibition technique for adenoviruses. *Am J Hyg* 1960;71:120-28.
- Rowe WP, Huebner RJ, Gilmore LK, Parrot RH, Ward TG. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 1953;84:570-73.
- Ruuskanen O, Meurmen O, Akusjarvi G. Adenovirus Chapter 25. *In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, eds Clinical Virology. New York Churchill Livingstone; 1997. p. 525.*
- Savón C, Laferté J, Goyenechea A, Valdivia A, Morier L, Tejero Y. Normalización de un ultramicroelisa indirecto para la determinación de anticuerpos totales IgG a adenovirus en sueros humanos. *Rev Cub Med Trop* 1994;46:144.
- Savón C, Muné M, Goyenechea A, Valdivia A, Soto Y, Pérez L. Conjuntivitis folicular por adenovirus. Caracterización de cepas por endonucleasas de restricción. *Rev Cub Med Trop* 1995; 47(3):195.
- Savón C, Pumariaga T, Muné M, Cancio R, González Z, Goyenechea A. Infecciones respiratorias agudas por adenovirus en niños menores de 5 años. Su clasificación por endonucleasas de restricción. *Rev Avances en Biotecnología Moderna. 1997;4: (47).*
- Shenk T. Adenoviridae. The viruses and their replication. *En: Fields MR, Knipe DM, Chanock RM, eds. Virology. New York: Raven Press; 1990. p. 1996-2149.*
- Torres G, Goyenechea A, Savón C, Valdés O, Oropesa S. Incidencia de los adenovirus en las conjuntivitis virales. *Rev Cub Med Trop* 1998;59(3):182.



Papovavirus

Yudira Soto Brito

FAMILIA PAPOVAVIRIDAE

La familia *Papovaviridae* se encuentra dividida en dos subfamilias, *Polyomavirinae* y *Papillomavirinae*. El término papovavirus se deriva de las dos primeras letras de los virus agrupados inicialmente para conformar la familia: *Papillomavirus* del conejo, *Polyomavirus* del ratón y *Simian vacuolating virus* (SV40). Los *Papillomavirus* integran la subfamilia *Papillomavirinae* y sus miembros se caracterizan por presentar genomas más grandes, y su importancia médica está dada por su capacidad de desencadenar procesos malignos en los humanos. Los virus que integran la subfamilia *Polyomavirinae* se conocen con el nombre genérico de *Polyomavirus* e infectan principalmente animales de diferentes especies, aunque algunos representantes infectan al hombre.

En el Cuadro 60.1 aparecen las propiedades generales más importantes de la familia *Papovaviridae*.

Cuadro 60.1. Propiedades generales más importantes de la familia *Papovaviridae*

Familia <i>papovaviridae</i>	
Virión	Icosaédrico, 45 a 55 nm de diámetro
Composición	ADN (10 %), proteínas (90 %)
Genoma	ADN de doble cadena circular, PM 3 a 5 x 10 ⁶ Talla de 5 a 8 kb
Proteínas	2 a 3 proteínas estructurales, ADN del virión asociado a histonas celulares
Envoltura	No presentan. Son virus desnudos
Replicación	Núcleo
Características notables de los miembros de la familia	Estimulan la síntesis del ADN en la célula Los Polyomavirus son modelos importantes de virus oncógenos causantes de tumores Los <i>Papillomavirus</i> son considerados como agentes etiológicos de varios tipos de cáncer Las oncoproteínas virales interactúan con las proteínas celulares supresoras de tumor

POLYOMAVIRUS

Estructura y composición

La estructura y composición de los polyomavirus se basa principalmente en las características de los virus SV40 y polyoma que son los más caracterizados dentro de este grupo viral por su pequeño genoma y su habilidad de causar transformaciones celulares malignas. Los polyomavirus son virus pequeños, no envueltos con cápside icosaédrica de aproximadamente 45 nm. El peso molecular del virión es alrededor de 27×10^6 con 72 capsómeros que incluyen 60 hexonas y 12 pentonas. El mismo se encuentra formado por tres proteínas estructurales llamadas VP1, VP2 y VP3, siendo VP1 la proteína mayoritaria de la cápside con un peso que oscila entre 39 y 44 KD. Las proteínas VP2 y VP3 tienen un peso de 35 y 25 KD respectivamente.

Estos virus presentan genoma circular de ácido desoxirribonucleico (ADN) superhelicoidal de doble cadena covalentemente cerrado con una talla de aproximadamente 5 000 pares de bases (5 kb) con un peso molecular de $3,2 \times 10^6$. El ADN genómico constituye aproximadamente el 12 % de la masa total del virión y se encuentra asociado a histonas celulares H2A, H2B, H3 y H4 para constituir una estructura en forma de cromatina que resulta indistinguible del ADN celular.

Las partículas virales pueden tener tres formas de presentación: virus infeccioso, los cuales contienen ADN viral; cápsides virales vacías, en las cuales el ADN viral se pierde y pseudoviriones, los cuales contienen fragmentos de ADN viral.

Los viriones y las cápsides de los polyomavirus difieren en las especies de VP1 que contengan, así como en su unión a la célula.

Clasificación

Los polyomavirus integran la subfamilia *Polyomavirinae* dentro de la familia de los *Papovavirus*. En el Cuadro 60.2 se pueden apreciar los virus que componen esta subfamilia y sus hospederos naturales.

Cuadro 60.2. Virus que componen la subfamilia *Polyomavirinae* y sus hospederos naturales

Agente viral	Hospederos naturales
BKV	Humanos
JCV	Humanos
SV 40	Monos
Papovavirus linfotrópico	Monos
SA 12	Monos Baboon
Polyomavirus	Ratones
Papovavirus K	Ratones
Papovavirus de hámster	Hámster
RKV	Conejos
Virus de Budgerigar fledgling	Aves

Los *polyomavirus* son virus pequeños, presentan cápside icosaédrica de aproximadamente 45 nm de diámetro la cual está formada por tres proteínas estructurales. Presentan un genoma de ADN de doble cadena circular cerrado covalentemente con una talla de 5 kb. Estos virus infectan gran cantidad de especies, incluyendo aves, roedores, conejos y primates. El rango de hospederos es relativamente estrecho y la infección entre especies no relacionadas genéticamente es ineficiente. Los polyomavirus no causan tumores en sus hospederos naturales, sin embargo, muchos de ellos inducen transformación en células de cultivo de tejidos y causan tumores cuando son inoculados en animales de experimentación.

Los polyomavirus fueron descubiertos por Ludwik Gross, en 1953, mientras estudiaba la transmisión de la leucemia en ratones y notó que estos desarrollaban tumores en las glándulas salivales. Luego de esta observación llamó polyoma al agente causal del tumor por su

capacidad de producir tumores en múltiples sitios. El virus 40 de los simios o *Simian virus 40* (SV40) fue descubierto por Sweet y Hilleman, en 1960, como un contaminante de vacunas de poliovirus preparadas a partir de cultivos celulares de riñones de monos *rhesus*. Este virus fue considerado la causa de tumores cuando fue inoculado en hámsteres recién nacidos.

Otros dos polyomavirus fueron descubiertos en 1971 y se conocen con el nombre de virus BK (BKV) y virus JC (JCV), ambos están genéticamente relacionados con el SV40 según estudios realizados para comparar sus secuencias nucleotídicas. El BKV fue aislado a partir de la orina de un receptor de transplante renal bajo terapia inmunosupresiva, mientras que el JCV fue aislado a partir de tejido cerebral de un paciente que padecía leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP). El BKV infecta a los humanos durante la infancia, presentando una amplia distribución mundial en la mayoría de la población. Este agente persiste en los riñones de forma latente sin causar enfermedad aparente. El JCV también infecta a los humanos durante la infancia y se presenta en la mayoría de la población mundial. Este virus es considerado el agente causal de la LMP. Esta fue la primera enfermedad humana asociada a polyomavirus y es considerado un síndrome raro que causa trastornos fatales del sistema nervioso central debido a la desmielinización progresiva y que además está comúnmente asociada a un estado de depresión inmunológica. En los últimos años la LMP causada por el JCV ha sido considerada como una importante complicación en los pacientes que sufren del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) debido al estado inmunológico de estos pacientes. Las infecciones producidas por el BKV han sido asociadas con cistitis hemorrágica, estenosis uretral y otras enfermedades del tracto urinario además de que se han podido aislar secuencias genómicas de este virus a partir de tumores cerebrales y pancreáticos.

La mayor parte de los polyomavirus se cultivan adecuadamente en cultivos celulares de fibroblastos humanos o en cultivos de células epiteliales provenientes de sus hospederos naturales, sin embargo, el papovavirus linfotrópico (LPV) crece solamente en cultivos de linfocitos B en división. Este agente fue aislado de una línea celular linfoblástica tipo B obtenida del mono verde africano. Las encuestas serológicas realizadas sugieren que los polyomavirus linfotrópicos antigénicamente relacionados están ampliamente distribuidos en todos los primates, incluyendo los humanos.

El papovavirus de hámster (HapV) fue aislado a partir de epitelomas de piel que surgieron espontáneamente en hámsteres sirios, este virus está genéticamente relacionado con los polyomavirus y ambos son capaces de inducir leucemias y linfomas en hámsteres recién nacidos. La propiedad leucogénica del HapV es exclusiva de este virus en la subfamilia *Polyomavirinae*.

El primer polyomavirus descrito que no afecta a los mamíferos es el virus causante de la enfermedad de Budgerigar fledging que produce una infección contagiosa aguda en aves. Su clasificación como polyomavirus se basa en la morfología, las reacciones de hibridación de ADN, la reacción con anticuerpos dirigidos contra la cápside viral y su capacidad de provocar la transformación celular.

El polyoma de ratón y el SV40 de los simios son los polyomavirus mejor caracterizados, ellos han sido ampliamente estudiados por presentar un genoma de talla pequeña y por su capacidad de producir transformación maligna en las células infectadas.

Estructura y función de las proteínas virales

El genoma de los polyomavirus se encuentra dividido en tres regiones, una región codificante conocida como temprana, otra región codificante conocida como tardía y una región no codificante o reguladora.

La región temprana de 2,3 kb codifica para tres antígenos conocidos como Ag T (T de tumor) largo, mediano y corto. Esta región temprana se expresa poco después de infectarse las células permisivas y se requieren al menos dos de los antígenos T para transformar las células. Para mantener la transformación, las células deben sintetizar continuamente las proteínas transformantes. El antígeno T grande del polyoma se encuentra en el núcleo de las células transformadas; el antígeno T mediano se vincula con la membrana celular donde forma complejos con la proteína normal c-src e induce la actividad de la tirosina kinasa.

La mayor parte de los antígenos T grandes se encuentran en el núcleo de la célula, pero pequeñas cantidades se localizan en la membrana plasmática donde son blanco de las células T citotóxicas implicadas en las reacciones de rechazo del tumor. El antígeno T pequeño se

encuentra ubicado entre el núcleo y el citoplasma y su presencia no estrictamente requerida para la infección productiva, pero desempeña una función importante en la acumulación de ADN viral. En el caso del antígeno T pequeño del SV40, este es capaz de unirse de forma específica a determinadas proteínas de la célula hospedera.

El antígeno T del SV40 no interactúa con la proteína c-src sino más bien forma complejos firmes con los productos de los genes celulares supresores del tumor, p53 y Rb. Se asume que estas interacciones del antígeno T con las proteínas celulares son importantes en el proceso de transformación.

La región tardía de 2,3 kb codifica para las tres proteínas estructurales de la cápside conocidas como VP1, VP2 y VP3 compuestas por 362, 352 y 234 aminoácidos respectivamente. La proteína VP1 es la proteína mayoritaria de la cápside y representa el 75 % del total proteico del virión, su función principal es mediar la unión del virus a la célula. Las proteínas VP2 y VP3 participan en el ensamblaje del virión. El SV40 y otros polyomavirus genéticamente relacionados codifican también para 4 proteínas de función desconocida que se conocen como agnoproteínas.

La región no codificante o reguladora está situada entre las dos regiones descritas anteriormente y contiene un sitio de unión al antígeno T largo, un sitio de inicio de la replicación y otras secuencias implicadas en el control de la transcripción.

Replicación

Las células infectadas por polyomavirus pueden responder de dos formas diferentes. La infección productiva o lítica es el resultado de la replicación del virus, la producción de una progenie de partículas virales infecciosas y la muerte de la célula hospedera. Por otra parte, la infección no productiva o abortiva es el resultado de la interrupción del ciclo de vida del virus y el fallo en la producción de la progenie viral. La naturaleza de la respuesta a la infección depende del tipo de célula infectada. Así, el polyomavirus de ratón causa una infección lítica en células de ratones y una infección abortiva en células de hámsteres, mientras el SV40 causa una infección lítica en células de mono y una infección abortiva en células de ratas o hámsteres.

La infección productiva producida por los polyomavirus se divide en dos etapas, temprana y tardía. La etapa temprana ocurre antes de la replicación del ADN viral y la etapa tardía ocurre después del comienzo de la replicación viral. La etapa temprana comienza con la adsorción del virus a la célula huésped y continúa hasta el comienzo de la replicación viral, que incluye además en la penetración y migración hacia el núcleo donde ocurre el desnudamiento. En esta etapa temprana se produce la expresión de genes que conducen a cambios importantes en la célula hospedera, incluyendo la activación de la expresión de genes celulares y la inducción de la síntesis de ADN de la célula hospedera. Posteriormente comienza la síntesis de ADN viral, seguido ocurre la síntesis de las proteínas de los viriones o antígenos T y al final se produce el ensamblaje de la progenie de partículas virales. La etapa tardía se extiende desde la replicación del ADN viral hasta el final del ciclo de infección e involucra la replicación del ADN, la expresión de los genes tardíos que codifican para las proteínas de la cápside, el ensamblaje de la partícula viral en el núcleo y la liberación del virus unida a la muerte celular.

El tiempo en que ocurre la infección lítica, en el caso del polyoma y el SV40, depende de la multiplicidad de la infección, de este modo la infección ocurre de forma más rápida cuando ha ocurrido a una alta multiplicidad. Otro aspecto del cual depende la eficiencia de la infección lítica es el estado de crecimiento de las células de modo que cuando las células se encuentran en fase exponencial de crecimiento los eventos de replicación y la producción de progenie viral ocurren de forma más eficiente. Un ciclo simple de infección por polyoma dura de 24 a 48 h. En el caso del SV40 un ciclo simple de infección dura de 48 a 72 h.

Etapas del ciclo de replicación

1. Adsorción del virus a la superficie celular y receptores celulares.

Este paso es mediado por la proteína VP1 y los anticuerpos que bloquean la adsorción a la superficie están estrictamente dirigidos contra la proteína VP1. Los virus mutantes que

codifican para proteínas VP1 alteradas producen dos tipos diferentes de placas de lisis, pequeñas o grandes, las cuales se corresponden con virus que difieren en su capacidad de adsorción a la célula hospedera. La proteína VP1 de polyoma puede ser dividida en seis especies designadas de la A hasta la F. Las seis especies difieren en las modificaciones postranscripcionales. Las especies D, E y F son fosforiladas, mientras que la especie E funciona como proteína de unión a células de ratones y las especies D y F son proteínas de unión a eritrocitos de curiel. El polyomavirus puede unirse a células de riñón de ratón por dos mecanismos diferentes. Así, los viriones que contengan las seis especies de VP1 se unen a un receptor específico, mientras que las cápsides que carecen de la especie E de VP1 no compiten con otros viriones por sitios de unión a las células de riñón de ratón, aunque sí son capaces de competir por los sitios de unión a las células de eritrocitos de curiel. Los virus que no se unen específicamente a los receptores de la célula huésped son degradados en liposomas, sin embargo, aquellos cuya unión resulta de forma específica son transportados hacia el núcleo para continuar con el proceso replicativo. De los receptores celulares de los polyomavirus se conoce poco, pero se sabe que los anticuerpos que bloquean la adsorción a la superficie están estrictamente dirigidos contra la proteína VP1. Se conoce además que las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHC clase I) al estar presente en la superficie de la célula forman parte del receptor. También se sugiere la hipótesis de que la adsorción del virus a la célula hospedera puede estar mediada por residuos de ácido siálico, pues la infección puede ser bloqueada cuando las células son tratadas con sialidasa.

2. Penetración y desnudamiento.

La penetración de los polyomavirus ocurre por endocitosis. Las partículas virales son adsorbidas a la superficie de la célula y luego son introducidas de forma individual o en pequeños grupos mediante vesículas endocíticas. Este proceso de endocitosis difiere del que ocurre en otros virus pues requiere de mecanismos de transporte a través de los endosomas o lisosomas los cuales son necesarios para el desnudamiento y la activación. La mayoría de los estudios realizados revelan que el desnudamiento ocurre en el núcleo. Las vesículas endocíticas que contienen los virus son transportadas hacia el núcleo donde la membrana endocítica se fusiona con la membrana nuclear, para liberar así, las partículas virales dentro de las cisternas nucleares. Se han visto vesículas endocíticas en el retículo endoplasmático lo cual también pudiera ser una vía para llegar al núcleo. El complejo de poros nucleares puede constituir una vía eficiente de entrada al núcleo donde el minicromosoma viral es transcrito, replicado y subsecuentemente encapsidado.

3. Transcripción a ácidos ribonucleicos mensajeros (ARNm) de las regiones tempranas.

La transcripción a ARNm tempranos está restringida a la región temprana del genoma viral y es llevada a cabo por la polimerasa de ARN tipo II que no requiere de proteínas codificadas por el virus. La transcripción temprana es regulada por el antígeno T el cual se une al ADN viral en la región del promotor temprano. La transcripción es además regulada por secuencias de ADN que determinan el sitio de iniciación de los transcritos tempranos, así como por factores celulares que se unen a secuencias de ADN en las regiones promotoras y amplificadoras. Una mayor eficiencia en la posterior transcripción de la región tardía del genoma viral depende de:

- a) Síntesis de las proteínas tempranas.
- b) Replicación del ADN viral.

4. Síntesis de las proteínas tempranas.

Los transcritos tempranos son procesados a partir de los ARN mensajeros maduros para la síntesis de las proteínas tempranas o antígenos T. Los antígenos T son sintetizados en el citoplasma, pero son enviados a diferentes compartimentos de la célula. Los antígenos T se localizan inicialmente en el núcleo donde participan en la replicación del ADN viral. La localización del antígeno T largo en el núcleo depende de sus secuencias aminoacídicas. La presencia de una fracción del antígeno T largo modificado por glicosilación y palmitilación sugiere que la vía secretora para el transporte de la proteína a través del retículo endoplasmático y el aparato de Golgi hacia la membrana plasmática puede ser utilizada por formas de antígeno T asociadas a membrana. Sin embargo, el antígeno T no contiene secuencias señales específicas que son necesarias para la entrada de la proteína a la vía secretora, por lo que se han descrito mecanismos específicos de transporte del

antígeno T hacia la membrana plasmática. El antígeno T pequeño se localiza de forma estable entre el núcleo y el citoplasma. Se plantea que el antígeno T pequeño no es necesario de forma estricta para la infección viral productiva, pero desempeña un papel importante en la acumulación de ADN del virus y en la unión específica a algunas proteínas celulares. El antígeno T mediano se localiza principalmente en la membrana plasmática aunque también puede estar presente en la región perinuclear y en el citoplasma.

5. Replicación del ADN viral.

La replicación del ADN de los polyomavirus y del SV40 ha sido ampliamente estudiada tanto en células infectadas como *in vitro*. Los cromosomas virales constituyen un modelo para el estudio de los cromosomas celulares al replicarse en el núcleo de la célula como minicromosomas y proporcionan los elementos necesarios para la replicación del ADN y el ensamblaje de la cromatina.

El proceso de replicación ocurre en forma de replicación en tenedor similar al que ocurre en los cromosomas de las células eucariotas. El ADN viral y celular difieren en el mecanismo de iniciación de nuevos ciclos de replicación pues los cromosomas celulares se replican solamente una vez por ciclo mientras que el ADN viral se replica varias veces en una fase S del ciclo de división celular. La replicación comienza a partir del origen de replicación y ocurre en dos direcciones, sintetizándose una hebra de ADN de forma continua y otra a través de fragmentos de okazaki. La iniciación es llevada a cabo por un complejo de iniciación que se une al ADN en el que participa el antígeno T largo. Este antígeno es una proteína multifuncional que interviene en la unión al ADN en la vecindad del sitio de origen de replicación, tiene actividad helicasa y ATPasa y que además contribuye a la transformación celular por su capacidad de immortalización.

6. Transcripción a ARN mensajeros (ARNm) de las regiones tardías.

Después que comienza la replicación se inicia la transcripción de los ARN de las regiones tardías los cuales son muy heterogéneos en talla. Los núcleos de las células infectadas contienen ARN gigantes que constituyen transcritos del genoma viral completo. Estos ARN son seguidamente procesados a ARN mensajeros en el citoplasma donde son poliadenilados.

7. Síntesis de las proteínas tardías.

Las proteínas del virión VP1, VP2 y VP3 son sintetizadas en el citoplasma y transportadas al núcleo donde se ensambla el virión infeccioso. Existen evidencias de que el citoesqueleto puede intervenir en el transporte de las proteínas virales hacia el núcleo, la cual puede ocurrir en forma de complejos proteicos.

8. Ensamblaje de las partículas virales.

Se forman partículas virales que contienen ADN e histonas celulares H1, H2A, H2B, H3 y H4. Los viriones en su formación atraviesan diferentes etapas: etapa de previrión con un coeficiente de sedimentación de 200 S, etapa de virión nuclear inmaduro con un coeficiente de sedimentación de 240 S y luego la etapa de virión extracelular. La histona H1 es eliminada en el paso de virión nuclear inmaduro a virión extracelular.

Patogenia y patología

La patogénesis de la infección por polyomavirus conduce a la siguiente secuencia de eventos: entrada del virus al organismo, acompañada de la multiplicación en el sitio de entrada; viremia con transporte de virus a los órganos diana y multiplicación del virus en dichos órganos. Con respecto al JCV y al BKV el sitio de entrada al organismo no está bien definido, pero se ha establecido que pudiera ser el tracto respiratorio. La rápida adquisición de los anticuerpos contra el virus en los primeros años de la vida sugiere al tracto respiratorio como vía de transmisión.

Estudios realizados en el polyomavirus K de ratón sugieren que su transmisión se efectúa por vía oral con una multiplicación inicial en las células endoteliales de los capilares intestinales. La entrada del virus a las células susceptibles ocurre por unión a la proteína mayoritaria de la cápside y posterior endocitosis, subsecuentemente se produce el transporte hacia el núcleo donde ocurre el desnudamiento y la multiplicación viral. El virus llega a los órganos diana por la vía hematológica y la viremia ocurre regularmente en ratones infectados con el polyomavirus K y en monos *rhesus* infectados con el SV40, sin embargo, en el caso del JCV y del BKV las evidencias de que ocurra una viremia son limitadas.

En individuos inmunocompetentes, luego de la infección primaria que ocurre en edades tempranas de la vida, el virus persiste indefinidamente como una infección latente sin que aparezcan síntomas reconocidos de enfermedad alguna. La infección primaria puede estar acompañada de viruria temporal, ocurriendo una persistencia del virus en los riñones durante toda la vida. Este aspecto ha sido corroborado por la presencia de secuencias genómicas de JCV y BKV en una alta proporción de muestras de necropsias renales que han sido estudiadas. Estos virus también pueden persistir en los linfocitos B y en la médula ósea, además de que se ha logrado detectar secuencias de ADN de dichos agentes en tejido normal de cerebro humano mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (del Inglés *Polymerase Chain Reaction* se conoce como la PCR). La reactivación de la infección viral y su excreción en orina puede estar condicionada por trastornos inmunológicos, especialmente déficit en la producción de células T. La reactivación del JCV y del BKV puede ocurrir bajo una amplia variedad de condiciones, incluyendo:

1. Transplante de riñón o médula ósea.
2. Enfermedades de inmunodeficiencia primaria.
3. Quimioterapia inmunosupresiva para el tratamiento de procesos malignos y otras enfermedades.
4. Embarazo.
5. Diabetes y otras enfermedades crónicas.
6. Edad avanzada.

Cuando la primoinfección del JCV y el BKV ocurre en niños con deficiencias inmunológicas esto puede conducir a un curso prolongado de la multiplicación viral y como consecuencia la aparición de efectos patológicos. Las consecuencias patológicas de la infección por polyomavirus pueden ser explicadas por el hecho de que el virus es capaz de inducir un daño celular severo en aquellas células que sufren infección productiva, de este modo en el caso de LMP producida por el JCV los hallazgos clínicos y patológicos reflejan cómo la infección provoca la destrucción de los oligodendrocitos.

Existen diferencias significativas entre el JCV y el BKV respecto a su comportamiento biológico y al cuadro clínico al que están asociados. Aunque ambos virus permanecen de forma latente en los riñones y se reactivan ante estados de deficiencia inmunológica, solamente el JCV afecta el SNC y provoca LMP.

Datos clínicos

Se ha establecido claramente que el JCV constituye el agente causal de la LMP, sin embargo, los polyomavirus están asociados a muchas patologías del tracto urinario y a infecciones del tracto respiratorio medio superior. La mayoría de estas enfermedades resultan de la reactivación de la infección viral.

Leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP). La enfermedad fue descrita con gran variedad de nombres en la primera literatura que se publicó al respecto, pero fue reconocida como una simple entidad en 1958. La ausencia de una respuesta inflamatoria en muchos casos, los cambios en el núcleo de los oligodendrocitos y la asociación de esta enfermedad con estados de depresión inmunológica condujeron a E. Richardson a proponer que la LMP podía ser el resultado de la infección de los oligodendrocitos con un virus oportunista. En 1965 se detectaron partículas de polyomavirus en muestras de tejido cerebral de pacientes con LMP y, en 1971, fue reconocido el JCV como el agente causal de la LMP al aislar el virus en cultivo de células gliales fetales humanas a partir de una muestra de tejido cerebral de un paciente con LMP.

La LMP es una enfermedad rara, subaguda que provoca la desmielinización del SNC y que se presenta ante la aparición de otras enfermedades que afectan la respuesta inmune mediada por células. Desde el punto de vista patológico se caracteriza por focos de desmielinización, la presencia de oligodendrocitos con núcleo alargado y cuerpos de inclusión alrededor del foco de desmielinización mientras que los astrocitos, muchas veces aumentados de tamaño, muestran una serie de raras modificaciones nucleares, se encuentran localizados en los focos de desmielinización. A escala macroscópica, cuando son analizadas

muestras de tejido cerebral con LMP se pueden apreciar áreas de desmielinización ampliamente distribuidas que varían en tamaño. En casos avanzados los centros de grandes áreas de desmielinización pueden ser necróticos y formar cavidades. Las lesiones son más frecuentes en la materia blanca subcortical. A escala microscópica la característica más importante es la presencia de oligodendrocitos alargados con núcleo de dos a tres veces mayor que su tamaño normal. Los núcleos son basófilos y pueden contener cuerpos de inclusión basófilos o eosinófilos. Estos oligodendrocitos alterados dentro y alrededor de pequeñas áreas de desmielinización, así como en los márgenes de las grandes áreas desmielinizadas.

El inicio de la enfermedad es insidioso, los primeros síntomas y signos de infección son multifocales y ocurren lesiones cerebrales asimétricas sin que se incremente la presión intracraneal. En las primeras etapas de la enfermedad se manifiestan trastornos del lenguaje y la visión, así como deterioro mental. Como regla general la enfermedad progresa rápidamente, produciéndose parálisis de los miembros, ceguera cortical y anomalías sensoriales. El paciente permanece afebril y la cefalea no es común. La muerte ocurre luego de 3 a 6 meses del inicio de la enfermedad, pues rara vez se logra la supervivencia por varios años con estabilización de los signos y síntomas o aún con remisión aparente. El líquido cefalorraquídeo permanece normal y los electroencefalogramas muestran cambios inespecíficos.

La LMP se encuentra ampliamente distribuida a escala mundial y puede presentarse como una complicación poco frecuente de otras alteraciones que incluyen trastornos linfoproliferativos como la enfermedad de Hodgkin, leucemia crónica linfocítica y linfosarcoma, enfermedades crónicas e inmunodeficiencia primaria. Se ha reportado además que la LMP se presenta como una complicación frecuente de los pacientes con SIDA, reportándose en el 3,8 % de estos pacientes que presentan trastornos neurológicos. La PML también se presenta en pacientes que han recibido una terapia inmunosupresiva por tiempo prolongado como es el caso de los receptores de trasplante renal, en pacientes con artritis reumatoide, *lupus* eritematoso sistémico y polimiositis. El estado del huésped es de vital importancia puesto que el JCV no causa PML en ausencia de alteraciones inmunológicas de modo que los pacientes con LMP muestran una baja respuesta de la inmunidad celular y una marcada disminución de la producción de anticuerpos contra el virus.

El evento patogénico clave de la LMP es el efecto citocida que se produce en los oligodendrocitos infectados por el JCV. Los oligodendrocitos son los encargados de la formación y mantenimiento de la cubierta de mielina por lo que la destrucción de estas células provoca la desmielinización, las neuronas no son afectadas por estos virus. Los astrocitos que se encuentran localizados en las áreas desmielinizadas, generalmente, no contienen antígenos o partículas virales, lo cual indica que la infección de estas células por el JCV es no permisiva. La distribución multifocal y la amplia diseminación de focos discretos de desmielinización sugieren una diseminación hematogena del virus al cerebro. Esta hipótesis está basada en la detección del JCV en células mononucleares de la médula ósea, en el bazo y en el parénquima perivascular del cerebro.

Enfermedad respiratoria. La infección primaria con BKV ha sido asociada con enfermedades respiratorias moderadas en niños jóvenes. En estudios realizados se ha demostrado un aumento en el título de anticuerpos contra el BKV, sin embargo, durante este período donde ocurre este aumento en el número de anticuerpos, algunos niños pueden presentar síntomas y otros pueden permanecer asintomáticos. Este virus ha sido aislado a partir de una muestra de orina de un niño que mostró seroconversión además de que el ADN viral no integrado ha sido identificado en tejido de las amígdalas de niños con enfermedad respiratoria recurrente.

Excreción viral en embarazadas. El embarazo reactiva infecciones latentes de polyomavirus, al encontrar evidencias citológicas de excreción viral en la orina. El diagnóstico citológico ha sido confirmado por métodos virológicos en muchos casos. Tanto el BKV como el JCV se han podido aislar en la orina. El inicio de la excreción viral ocurre tardíamente en el segundo trimestre y durante el tercer trimestre del embarazo. Una vez establecida la excreción viral, esta continúa intermitentemente a lo largo del embarazo y cesa en el período posterior al parto. La excreción viral no está asociada con ningún efecto perjudicial para la madre. En pruebas realizadas con sueros pareados se ha podido encontrar un aumento en los títulos de anticuerpos contra el BKV o JCV y las infecciones ocurridas en individuos en los que se detectan anticuerpos en el suero han sido diagnosticadas como reactivas. Se ha investigado la posibilidad de que los virus puedan ser transmitidos congénitamente y

esto se ha realizado buscando anticuerpos IgM específicos en el cordón umbilical, aunque no hay evidencias concluyentes que indiquen que esto pueda suceder para ninguno de los dos virus.

Infecciones en receptores de trasplante renal. La excreción renal del virus en la orina de estos pacientes ha sido monitoreada por varias técnicas incluyendo citopatología urinaria, identificación inmunológica de antígenos virales en células urinarias, demostración de partículas virales por microscopía electrónica, aislamiento viral, demostración de la presencia de antígenos virales por la técnica de ELISA e identificación del genoma viral por hibridación de ácidos nucleicos y PCR. El BKV es excretado mucho más frecuentemente que el JCV y el tiempo de excreción varía desde una viremia transitoria hasta la excreción durante varias semanas o meses. La reactivación de la infección viral puede ocurrir en individuos seropositivos o como primoinfección en individuos seronegativos. El riñón del donante seropositivo puede iniciar infecciones en el receptor. Las consecuencias patológicas de estas infecciones no han sido bien delineadas aunque en los pacientes receptores de trasplante renal no son tan severas como las producidas por citomegalovirus (CMV). La infección parece ser causa de obstrucción uretral en estos pacientes receptores de trasplante renal, aunque no es muy común y aparece como una complicación tardía del trasplante.

Cistitis e infección renal en niños. La infección por polyomavirus se ha visto asociada a cistitis en niños previamente sanos, al presentar hematuria y al detectarse el virus en las células urinarias. Este cuadro pudiera ser el resultado de la infección primaria atípica en niños con trastornos inmunológicos. Los polyomavirus también se han visto asociados a cuadros de nefritis intersticial con daño renal irreversible.

Cistitis hemorrágica en receptores de trasplante de médula ósea. En todos los casos las infecciones ocurren como resultado de una reactivación en individuos seropositivos. En contraste con el patrón de viremia de otros estados inmunodeprimidos, las reactivaciones del JCV en estos casos ocurren con ausencia de viremia. En la mayoría de los pacientes la excreción del BKV se produce en el período posterior al trasplante. El inicio de las infecciones por BKV ocurre entre 2 y 8 semanas después del trasplante y la duración de la viremia es variable, aunque, generalmente, dura de 3 a 4 semanas.

Función de los poliomavirus en los procesos malignos en humanos. Los poliomavirus son oncógenos para muchas especies de animales y tienen la capacidad de transformar células humanas. Se ha investigado la función de estos virus en la etiología de los tumores humanos y muchos estudios se han encaminado a tratar de identificar los marcadores virológicos y serológicos en los pacientes con tumores malignos.

Otras patologías tumorales: el genoma del BKV ha sido detectado en células de islote pancreático de pacientes con adenomas pancreáticos, así como en pacientes con tumores de cerebro de tipos histológicos severos. El genoma viral en estos casos se puede encontrar de forma extra cromosomal en un bajo número de copias o integrado al genoma de la célula hospedera.

Inmunidad

El BKV y el JCV presentan en la superficie del virus determinantes antigénicos específicos de especie y también para reaccionar de forma cruzada con otras especies. La reactividad cruzada entre estos dos virus es mínima o prácticamente nula cuando se realizan estudios de detección de anticuerpos por técnicas de neutralización, inhibición de la hemoaglutinación e inmunomicroscopía electrónica. Los determinantes antigénicos de género de los polyomavirus se localizan al adentrarse en la superficie del virión y se ubican en la proteína mayoritaria de la cápside VP1. Este determinante antigénico se expresa en células infectadas las cuales producen anticuerpos neutralizantes contra el mismo, pero que no son capaces de neutralizar virus que no están genéticamente relacionados.

Diagnóstico

El diagnóstico clínico se basa en el estudio de signos y síntomas en el paciente, por ejemplo la presencia de daños neurológicos con lesión cerebral asimétrico en focos múltiples

y en ausencia de un incremento de la presión intracraneal sugiere el diagnóstico de una LMP en un individuo con un estado inmunológico alterado. Así, junto a los hallazgos clínicos se realizan estudios de tomografía axial computadorizada, resonancia magnética y otras técnicas citológicas, histológicas, inmunológicas y moleculares que permiten concluir el diagnóstico del paciente. El diagnóstico inmunológico no es una herramienta útil puesto que los anticuerpos están presentes en el suero cuando el cuadro de la enfermedad ya ha evolucionado completamente, además de que los niveles de anticuerpos no son relevantes y no manifiestan incrementos en el curso de la enfermedad. Los anticuerpos contra el virus no se pueden detectar en el líquido cefalorraquídeo. La morfología de las células epiteliales del tracto urinario es útil para detectar la excreción de polyomavirus en orina. Las células epiteliales infectadas por el virus presentan una morfología alargada, en el núcleo se presenta una inclusión basófila homogénea que ocupa casi toda el área de este. El diagnóstico diferencial se realiza para células infectadas por CMV y para células tumorales uroteliales. Sin embargo, el diagnóstico citológico no es definitivo pues no permite diferenciar entre infecciones por BKV o JCV además de que la excreción viral en orina puede ocurrir sin anomalías citológicas. La detección del virus en la orina puede ser demostrado por una amplia variedad de técnicas, que incluyen:

1. Aislamiento viral en cultivo de tejidos, principalmente líneas celulares humanas de linaje glial, astrocitos fetales humanos, células uroteliales, células de amnios humano, células de cerebro adulto y células HEK.
2. Detección de partículas virales en orina mediante microscopía electrónica.
3. Ensayos de ELISA para la detección de antígeno viral.
4. Inmunofluorescencia indirecta o inmunoprecipitación.
5. Identificación de ADN viral de células del tracto urinario mediante técnicas de hibridación molecular Southern blot, Dot blot e *in situ*, empleando sondas específicas de ADN de BKV o JCV.
6. Identificación de secuencias específicas del genoma viral amplificadas mediante PCR.

Epidemiología

Tanto en el caso del BKV como el JCV la infección ocurre en las primeras etapas de la vida. Para la mayoría de la población la primoinfección con BKV o JCV en niños sanos no se asocia a ninguna enfermedad. La seroconversión con BKV se asocia a enfermedad respiratoria moderada, pero ni el BKV ni el JCV se han podido aislar de secreciones respiratorias. En niños con algún tipo de inmunodeficiencia, la infección primaria con BKV puede causar daños renales mientras que la primoinfección con JCV en estos infantes puede provocar LMP. La forma en que se transmiten estos virus aún no está clara, sin embargo, la rápida adquisición de los anticuerpos durante la infancia es más consistente ante una infección diseminada en el tracto respiratorio que ante una infección diseminada en el tracto urinario. Luego de la primoinfección el virus persiste de forma latente en los riñones el cual se puede reactivar luego de muchos años. Las reactivaciones ocurren no solamente en presencia de inmunosupresión como es el caso de los pacientes receptores de trasplante renal sino también dependiendo de otros factores como el embarazo y las enfermedades crónicas como la diabetes.

Tratamiento, prevención y control

Las tentativas para encontrar un tratamiento contra las enfermedades producidas por los polyomavirus no han sido exitosas. La estrategia general se basa en discontinuar los tratamientos inmunosupresivos, si fuera posible, tratando de inhibir la multiplicación viral mediante quimioterapia. Las drogas que se utilizan más frecuentemente para este fin son los análogos de bases nucleotídicas como arabinósido de adenina y arabinósido de citosina. Los pacientes que comúnmente pueden beneficiarse con este tipo de terapia son aquellos cuyos mecanismos de defensa inmunológica están relativamente intactos y en los cuales es

posible eliminar o reducir la inmunosupresión iatrogénica. No existen otros mecanismos de tratamiento, prevención y control descritos.

PAPILLOMAVIRUS

Estructura y composición

Los papillomavirus humanos (PVH) son un grupo de partículas virales pequeñas de aproximadamente 55 nm de diámetro, que presentan un genoma de ácido desoxirribonucleico (ADN) de doble cadena y pertenecen a la familia *Papovaviridae*. Son virus desnudos y de talla pequeña capaces provocar lesiones epiteliales de origen maligno, aunque también constituyen la causa de una amplia gama de lesiones proliferativas de naturaleza benigna. La cápside viral presenta simetría icosaédrica, tiene un diámetro de 55 nm y está compuesta por 72 capsómeros, de los cuales 60 son hexonas y el resto pentonas. Está formada por dos proteínas estructurales; una de ellas se conoce como la proteína mayoritaria de la cápside y tiene un peso molecular de 55 000, representando aproximadamente el 80 % del total de las proteínas virales.

Esta proteína mayoritaria genera una respuesta neutralizante de anticuerpos específicos de grupo y está altamente conservada entre los diferentes tipos de PVH. La otra proteína estructural tiene un peso molecular de 75 000 y se conoce como proteína minoritaria de la cápside al representar un menor porcentaje dentro de la misma, además es una proteína mucho menos conservada entre los diferentes tipos de PVH. Ambas son codificadas por los marcos de lectura abierta (ORF, del inglés *open reading frame*) L1 y L2 respectivamente. Al ser virus no envueltos, los PVH son relativamente resistentes al calor y a los solventes orgánicos. La partícula viral está formada por una sola molécula de ADN circular de doble cadena de aproximadamente 8 000 pares de bases (8 kb). Su peso molecular es de $5,2 \times 10^6$ y está asociada con las histonas celulares formando un complejo similar a la cromatina. El genoma viral contiene 10 ORF y su estructura revela marcadas similitudes entre diferentes miembros de este grupo viral. Generalmente, una sola cadena del genoma es transcripcionalmente activa, así la transcripción ocurre en una sola dirección de modo que los ORF muestran un alto grado de correspondencia. El contenido guanina-citosina de la mayoría de los papillomas es de 42 % y el ADN constituye aproximadamente el 12 % del peso del virión. La mayoría de los genomas de los PVH han sido clonados y ha sido posible secuenciarlos completamente.

Clasificación

Por muchos siglos se ha sospechado la naturaleza infecciosa de las verrugas; Ciuffo, en 1907, descubrió su etiología viral mediante la transmisión de estos de una persona a otra por inoculación de un extracto de tejido infectado libre de células. El primer Papillomavirus se descubrió, en 1933, cuando Shope reconoció el agente etiológico de la papilomatosis cutánea del conejo algodonoso. Años más tarde se determinó que estos virus estaban asociados a lesiones localizadas en diferentes sitios en el hombre (piel, cavidad oral, tracto anogenital y respiratorio).

Históricamente los papillomavirus habían estado agrupados junto a los polyomavirus como géneros de la familia *Papovaviridae* que incluye virus de talla pequeña, desnudos, con simetría icosaédrica, genoma de ADN y que se replican en el núcleo celular. Las partículas de papillomavirus son un poco mayores que las de polyomavirus en cuanto al diámetro de la cápside y el tamaño del genoma. Estudios recientes de la biología y organización del genoma de estos virus sugieren que no deben ser agrupados como géneros de una misma familia, sino como dos subfamilias individuales. Los miembros de las subfamilias pueden ser distinguidos por las tallas de los viriones y del genoma viral y por la existencia de antígenos característicos. La conservación de secuencias de ADN entre los miembros de una subfamilia permite la hibridación cruzada en condiciones de astringencia reducida, situación en la cual no hibridan miembros de papillomavirus y polyomavirus.

Con la introducción de la microscopía electrónica fue descrita la morfología viral. Las partículas se detectaron en verrugas genitales, plantares y laríngeas, pero los pasos en la caracterización de PVH fueron lentos, ya que no podía propagarse en cultivo de tejidos ni transmitirse a animales de laboratorio. En la década del 60 se pensaba que solo existía un simple tipo viral y que la naturaleza del epitelio infectado era probablemente la responsable de las características morfológicas y el comportamiento de las verrugas. Diez años después, con el desarrollo de las técnicas de clonaje molecular, se reconocieron una gran cantidad de papillomavirus que afectan tanto al hombre como a los animales.

El conocimiento sobre los papillomavirus se aceleró durante los años 80, con el empleo fundamentalmente de ensayos de transformación *in vitro* que permitieron el análisis de funciones involucradas en la proliferación celular. En esta misma década se descubrió la estrecha relación existente entre PVH y el cáncer cervical (CC), lo que ha focalizado el interés de los investigadores y especialistas hacia aquellos tipos asociados a lesiones genitales. Actualmente se consideran los papillomavirus como el agente viral que constituye la mayor causa de los cánceres de piel y mucosas, encostrándose en más del 90 % de los cánceres cervicouterinos y en más del 50 % de los cánceres anogenitales y orofaríngeos.

La caracterización del ADN de virus aislados de lesiones individuales, los estudios de hibridación, secuenciación, y por último la aplicación de la técnica de PCR han permitido la identificación de cerca de 216 tipos de PVH diferentes y el reconocimiento de las especificidades de las lesiones producidas por ellos.

La clasificación se ha basado en dos aspectos fundamentales: la especie en la que se detectó el virus, y el grado de homología de los genomas de los diferentes virus aislados de una misma. En los bovinos se han descrito 8 tipos de papillomavirus diferentes y se han identificado alrededor de 216 tipos en el hombre.

Hasta el año 1995 se consideraba que para que un papillomavirus fuera clasificado como nuevo tipo, debía existir una homología no mayor de un 50 % con los otros tipos conocidos en una reacción de hibridación en fase líquida, bajo determinadas condiciones de astringencia. La diferenciación de tipos se auxilia del análisis de restricción y del análisis de alineación por computación, que brindan datos muy precisos y confiables sobre la homología entre los nuevos tipos y los ya existentes. Los subtipos se designan sobre la base del polimorfismo de los patrones que se obtienen al realizar digestiones con endonucleasas de restricción. Sin embargo, actualmente es otro el criterio que se sigue para determinar nuevos tipos de papillomavirus puesto que al analizar detalladamente la secuencia genómica de nuevos PVH descubiertos y al asociar los cambios genotípicos con el comportamiento biológico de los mismos se llegó a la conclusión de que el ORF L1 es el que determina las diferencias más marcadas entre ellos por ser este el más conservado entre todos los tipos de PVH. Se estableció en la Conferencia Anual sobre papillomavirus realizada en Québec, Canadá, en 1995, que diferencias genéticas mayores de un 10 % en el ORF L1 constituyen cambios genómicos suficientes para considerar un tipo de PVH como nuevo.

De los 216 tipos de PVH existentes, aproximadamente 80 han sido totalmente secuenciados y estudiados y ha logrado la secuenciación parcial de otros 120 tipos. Hasta el momento se han reportado en la literatura internacional la clasificación de 77 tipos y el tipo de lesión o enfermedad con la que se han visto asociados. Del total de tipos de PVH reportados alrededor de cuarenta infectan la mucosa cervical y se han clasificado en dos grupos (alto y bajo riesgo) en dependencia de la frecuencia con que aparecen asociados a las lesiones premalignas y malignas y del riesgo de desarrollar cáncer cervical u otro tipo de cáncer que implique su presencia. Se han identificado secuencias que son específicas de cada uno de estos grupos que están relacionadas con su comportamiento biológico y son de gran utilidad diagnóstica. Dentro del grupo de los papillomas de alto riesgo el mejor prototipo conocido es el PVH 16. Estos PVH de alto riesgo son capaces de inmortalizar queratinocitos humanos y sus oncoproteínas se unen de forma eficiente a las proteínas celulares represoras de tumor p53 y RB, además tienen la capacidad de inducir aberraciones cromosómicas, contribuir a la progresión de la latencia en las células infectadas y de actuar por sí solos como carcinógenos celulares. Sin embargo, cuando las células epiteliales están infectadas por PVH de bajo riesgo, ellos por sí solos no son capaces de inducir la carcinogénesis sino que requieren de la presencia de carcinógenos físicos o químicos externos como los rayos X, la luz ultravioleta o la nicotina. Los prototipos del grupo de PVH de bajo riesgo son los tipos mucosotrópicos PVH 6 u 11 y el tipo 5 como representante dermatrópico.

Los papillomavirus humanos también pueden ser divididos según la composición de ácidos nucleicos y su localización en el cuerpo, de manera que existe el grupo de los PVH asociados a lesiones anogenitales cuyos representantes son los PVH 16 y 18. Otro grupo es el que integran los PVH que se asocian a la epidermodisplasia verruciforme (EV) cuyo miembro más prominente lo es el PVH 5. El tercer grupo lo integran aquellos virus que se asocian preferentemente a lesiones cutáneas y cuyo prototipo es el PVH 4. Existe un cuarto grupo muy heterogéneo que contiene tipos poco relacionados como el PVH 1, 63 y 41 pero que se asocian a lesiones muy similares.

En el Cuadro 60.3 se pueden apreciar la clasificación de cada uno de estos tipos y otros datos de interés.

Cuadro 60.3. Asociación entre los tipos de *Papillomavirus* descritos y la morfología y localización de las lesiones que provocan

Tipos de PVH	<i>Papillomavirus</i> Patología asociada	Localización
6, 11, 70	Verrugas genitales	Vulva, pene, periano, introito vaginal
1	Verrugas plantares	Planta de los pies
2, 4, 26, 27, 29, 75, 76, 77	Verrugas comunes	Manos
3, 10, 28, 49	Verrugas planas	Brazos, cara y rodillas
65	Verrugas pigmentadas	Cara y cuello
7	Verrugas de carniceros	Manos
5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19 al 25, 36, 46, 47, 50	Epidermodisplasia verruciforme	Cara, tronco y extremidades
36, 37, 38, 41, 48, 60, 63	Lesiones malignas de piel	Variable
16, 18, 31, 33 al 35, 39, 40, 42 al 45, 51 al 56, 58 al 62, 67 al 69, 71, 74	Neoplasia intraepitelial cervical y cáncer anogenital	Vulva, pene, ano, periano, cérvix uterino, vagina
6, 7, 11, 13, 30, 32, 57, 72, 73	Lesiones en vías respiratorias y cavidad oral	Boca, laringe, faringe, esófago, pulmones
26, 49, 72, 73, 75 al 77	Lesiones en inmunodeprimidos	Variable

Estructura y función de las proteínas virales

La organización del genoma de los papillomavirus a través de toda la familia es marcadamente similar. Todos los ORF están localizados en una de las cadenas del ADN viral y la otra cadena contiene pequeños ORF no conservados, por lo que se asume que es no codificante. Las cadenas codificantes presentan 10 ORF, que se denominan tempranos (E) o tardíos (L) en dependencia de su localización en el genoma. La región E codifica las proteínas tempranas E6, E7, E1, E2, E4 y E5 que están involucradas en la persistencia del genoma viral, en la replicación del ADN y en la activación del ciclo lítico además de que están asociadas con la transformación celular y la regulación de los genes virales; así se consideran las más importantes en la patogénesis del cáncer invasivo. La región L codifica las proteínas estructurales L1 y L2 que solo se expresan en células infectadas productivamente. Entre las regiones E y L se encuentra una gran región de control (LCR, del inglés *long control region*), que no contiene secuencias codificadoras, pero posee promotores y amplificadores importantes en la regulación de la transcripción de los genes virales. Esta región constituye el 10 % del genoma del virus.

Las diferencias entre las secuencias LCR de los diferentes tipos de PVH tienen un marcado efecto en el fenotipo maligno de estos. Estas secuencias influyen en el tipo de queratinocitos en el cual el virus puede ser transcripcionalmente activo, ya que se ha comprobado que los elementos amplificadores de PVH 16 funcionan preferentemente en los queratinocitos de la mucosa genital, lo que explica el tropismo de estos virus. A los elementos amplificadores de PVH se unen muchos factores transcripcionales diferentes. Estos factores no solo están presentes en las células epiteliales y la unión de los mismos a los promotores no es un evento específico de las células infectadas por el virus. La especificidad celular puede residir en la concentración en que se presenten estos factores.

Las proteínas E6 y E7 son las más importantes para el desarrollo del cáncer. Su expresión genética debe conservarse para mantener el fenotipo maligno en los tejidos cancerosos. La

proteína E6 tiene aproximadamente 150 aminoácidos y se localiza tanto en la matriz nuclear como en las membranas no nucleares. Tiene la capacidad de unirse y degradar a la proteína p53 que es un importante regulador negativo del crecimiento celular y una proteína supresora de tumores. La proteína E6 de los tipos de PVH de alto riesgo se une más eficientemente a p53 que la de los tipos de bajo riesgo explicando en parte las diferencias que existen en el comportamiento biológico de ambos grupos.

La E7 es una proteína de 98 aminoácidos que se localiza en el citoplasma de las células infectadas. Su expresión en queratinocitos humanos es suficiente para inducir la transformación celular, pero su efecto es mucho mayor cuando es coexpresada con E6. Se ha postulado que E7 puede inactivar la proteína celular RB, que funciona como regulador negativo del crecimiento celular. La proteína E7 de los tipos de bajo riesgo presenta una menor afinidad por RB que la E7 de los tipos de alto riesgo.

E1 desempeña una función importante en la regulación de la replicación del ADN, en el mantenimiento de la forma episomal de la molécula viral y en la regulación de la actividad de la proteína.

La proteína E2 es importante en el proceso de transformación celular, ya que es producida por diferentes patrones de modificación post-transcripcional que al ser expresados pueden tener efectos estimuladores o inhibidores sobre la expresión de los genes E6 y E7. En la mayoría de los casos la forma predominante de E2 tiene efecto inhibitorio sobre la expresión de estos genes y puede limitar la transformación potencial de las células infectadas por PVH. La integración del genoma viral al cromosoma celular por la región E1/E2 es un evento que contribuye al desarrollo del cáncer, ya que ocasiona deleciones en esta zona del genoma que provocan la pérdida de la expresión de la proteína E2 y potencian la capacidad transformante del virus. Esto se corresponde con la presencia de PVH en forma episomal en tejidos histológicamente normales y precursores de cáncer y su integración al cromosoma en el cáncer invasivo. La integración también es importante, ya que puede alterar la expresión de genes humanos y su regulación.

La proteína E4 se acumula en el citoplasma de las células más diferenciadas y puede desempeñar una función importante en el desarrollo de efectos citopáticos como la coilocitosis. El papel de E5 en la patogénesis del cáncer permanece incierto, ya que no es capaz de transformar queratinocitos humanos primarios por sí sola, pero puede facilitar el proceso de transformación al permitir la expresión de altos niveles de receptores de factores de crecimiento epidérmico en estas células.

La expresión de L1 y L2 está ligada fuertemente a la diferenciación de los queratinocitos. L1 constituye la proteína mayoritaria de la cápside y se ensambla con L2 en una proteína altamente estructurada que se requiere para la formación de partículas infecciosas completas.

Los patrones en la expresión de los genes de PVH varían de acuerdo al grado de la lesión clínica. En las neoplasias intraepiteliales cervicales (NIC) de bajo grado los genes más expresados son E4 y E5, mientras que en las lesiones de alto grado la expresión de los genes E6 y E7 se hace más prominente.

Replicación

Existen dos formas de replicación del ADN viral. La primera de ellas ocurre en la porción baja de la epidermis, donde el genoma se mantiene como un plásmido con un promedio de multiplicación de 11 copias por cada ciclo celular. La segunda forma es la replicación vegetativa, que ocurre en las células más diferenciadas de la epidermis, donde no hay síntesis de ADN celular y existe una explosión en la generación de genomas virales que garantiza la formación de la progenie.

La replicación de los papillomavirus se divide en dos etapas, temprana y tardía; esto demuestra que estas etapas están directamente ligadas al grado de diferenciación de las células epiteliales. Por esta razón, la replicación depende de la expresión de ciertos genes virales tempranos esencialmente.

Desde el punto de vista histológico, la replicación viral conduce a la aparición de una serie de lesiones que abarcan una amplia variedad de manifestaciones. Estos cambios histológicos reflejan las propiedades de los PVH y los cambios morfológicos son inducidos por productos específicos de los genes virales.

Se ha demostrado que E1 codifica factores que están involucrados de forma directa en la replicación viral y que los ORF E2, E5, E6, E7 y E8 participan indirectamente.

El ADN viral puede ser detectado en las capas externas del epitelio junto a las proteínas estructurales del virus. El ciclo replicativo se completa entre 36 y 44 h y la liberación de las partículas virales maduras se logra por lisis celular.

Las células basales del epitelio escamoso son las células diana de la infección viral, y, por tanto, es donde se lleva a cabo la replicación. Al ser infectadas dichas células, se induce la formación de la lesión y el virus puede persistir en ellas de forma indefinida.

Se ha podido demostrar a través de técnicas de hibridación *in situ* que ciertamente el ADN viral se encuentra en las células basales y parabasales del epitelio escamoso en lesiones papilomatosas, además, utilizando sondas específicas de las regiones tempranas de los genes de PVH, se han detectado transcritos de los genes virales en las células basales de la epidermis. Sin embargo, la expresión de los genes tardíos, la síntesis del ADN viral vegetativo y el ensamblaje de los viriones ocurren en las células epiteliales escamosas completamente diferenciadas. Las etapas de la replicación viral están estrechamente vinculadas con el grado de diferenciación celular. Los genes virales tardíos, los cuales codifican para las proteínas estructurales de la cápside, se expresan solamente en células completamente diferenciadas de la epidermis cuando el virus es el agente causal de verrugas epidérmicas. Utilizando un antisuero contra la proteína mayoritaria de la cápside, este antígeno puede ser detectado en la mayoría de las células superficiales de las verrugas.

De las primeras etapas del ciclo de replicación de los PVH se conoce muy poco, por lo que existe muy pocos datos acerca de la adsorción, la penetración y el transporte hacia el núcleo de los virus infecciosos.

Etapas del ciclo de replicación:

1. Adsorción del virus a la superficie celular y unión a los receptores celulares.

Este evento no se ha podido estudiar adecuadamente debido a las dificultades para propagar estos virus en el laboratorio y para generar virus infecciosos *in vitro*. Estudios realizados con el empleo de partículas virales marcadas radiactivamente han revelado que los PVH pueden unirse a una gran variedad de tipos celulares, además de las células hospederas naturales, las células epiteliales escamosas. El tropismo específico de estos virus por los queratinocitos no parece estar asociado a ningún tipo específico de receptor celular. Estos elementos se sustentan en estudios que muestran que los papillomavirus pueden transformar una gran variedad de células. La unión a la superficie celular parece estar condicionada por la proteína de la cápside L1, sin embargo, no se ha identificado un receptor en la superficie celular específico para los papillomavirus.

2. Penetración por endocitosis, transporte al núcleo y desnudamiento del ADN viral.

No se han publicado hasta el momento los mecanismos por los cuales los papillomavirus penetran a la célula, se transportan al núcleo y producen el desnudamiento del ADN, sin embargo, se supone que estos mecanismos son muy similares a los empleados por los polyomavirus.

3. Transcripción de la región temprana.

La mayoría de los estudios realizados en papillomavirus bovino (BPV-1) y en PVH 11, 16 y 18 han brindado la mayoría de la información sobre esta fase del ciclo replicativo. La transcripción de los papillomavirus es debida a la presencia de múltiples promotores y la producción diferencial de varias especies de ARN mensajeros en múltiples especies celulares. En células infectadas por el BPV-1 se han identificado 7 promotores transcripcionales diferentes y alrededor de 20 especies diferentes de ARN mensajeros. La mayoría de las especies de ARN mensajeros utilizan el nucleótido 4180 de los genes tempranos como el sitio de poliadenilación. Estas especies de ARN principalmente codifican factores virales involucrados en la replicación viral del genoma como plásmido, regulan la transcripción viral y la transformación celular. El segundo grupo de ARN, que se expresa en células infectadas productivamente utiliza una señal de poliadenilación en el nucleótido 7156 de los ORF L1 y L2. Estas especies de ARN se localizan solamente en los queratinocitos completamente diferenciados.

4. Transcripción de las proteínas tempranas.

El ORF temprano E2 codifica al menos para tres proteínas diferentes. Ellas actúan de forma diferente en la expresión de los genes virales y constituyen los mayores reguladores intragenómicos, ya que forman dímeros que se unen a sitios específicos. La proteína

E2 de PVH 16 y 18 funciona como un activador transcripcional en queratinocitos cervicales humanos. La delección del ORF E2 se ha podido observar en muestras de biopsias de cáncer cervical lo cual conduce a pensar que esta delección facilita la transformación de las células humanas y la transición hacia el estado de malignidad. La E2 también es capaz de estimular la replicación de ADN viral unida a la proteína E1.

El ORF E1 codifica para un ARN policistrónico y tiene sitios específicos de unión al ADN. Además se une al ATP por lo cual provoca su hidrólisis, tiene actividad helicasa dependiente de ATP y es esencial para la replicación. La proteína E1 es capaz de interactuar con la polimerasa de ADN tipo alfa, de origen celular. Además de L1, E1 representa el ORF más conservado entre los diferentes tipos de PVH. La proteína E5 de los PVH tiene una débil actividad transformante.

El ORF E5 frecuentemente sufre delección en los cánceres cervicales, sin embargo, en neoplasias anogenitales de bajo grado es posible detectar ARN mensajeros de E5 en grandes cantidades. Este aspecto apoya el hecho de que E5 desempeña un papel importante en las etapas tempranas de la infección por PVH, pero obviamente no es esencial para la transformación maligna.

La proteína E4 parece estar clasificada como un producto génico temprano puesto que se origina como un producto del ARN transcrito entre los ORF E1 y E4. Su función hasta el momento no es conocida pues no es necesaria para la transformación o para la persistencia del ADN viral de forma episomal. El E4 se localiza exclusivamente en las capas más diferenciadas de células epiteliales infectadas, es por eso que se especula su función en la infección productiva, probablemente por interrupción de la diferenciación normal de estas células, estableciendo condiciones favorables para la maduración viral.

Las proteínas E6 y E7 se expresan en células cancerosas infectadas por PVH. Estas proteínas pueden causar inmortalización de los queratinocitos humanos, así como de otra gran cantidad de células. Los genes E6 y E7 involucrados en la inmortalización de células de cultivos celulares de línea son encontrados frecuentemente en tumores malignos donde se detectan determinados tipos de PVH, estos tipos son considerados PVH de altos riesgos; contrastando con otros tipos de bajo potencial oncogénico que se conocen como PVH de bajo riesgo. Los genes E6 y E7 codifican para proteínas estimulantes del crecimiento, particularmente E6 y E7 de tipos específicos de PVH son esenciales en la progresión del crecimiento maligno.

5. Replicación del ADN viral estacionario.

En las etapas iniciales de la infección por PVH, el genoma viral puede amplificarse en un período corto de tiempo. Ocurre entonces una transición a una etapa de mantenimiento en la cual el plásmido (genoma) se replica una vez por ciclo celular de forma análoga a la replicación del ADN cromosomal. Estos plásmidos, generalmente constituyen la generación de moléculas de ADN viral que quedarán de forma latente o episomal al finalizar el ciclo de replicación viral.

6. Replicación del ADN viral vegetativo.

El ADN de PVH puede replicarse de forma vegetativa para generar los genomas que serán procesados completamente para formar los viriones. Este proceso solo ocurre en las células epiteliales completamente diferenciadas de la epidermis de la lesión papilomatosa.

7. Transcripción de la región tardía.

La transcripción de los genes tardíos ha sido estudiada en BPV-1. Los ARN mensajeros específicos de L1 y L2 son poliadenilados en el nucleótido 7175. Además, ambos genes tardíos L1 y L2 son expresados a partir de ARN mensajeros transcritos por un promotor específico, este promotor es regulado por factores celulares.

8. Producción de las proteínas de la cápside L1 y L2.

La expresión de L1 y L2 está ligada fuertemente a la diferenciación de los queratinocitos. La producción de estas dos proteínas es requerida para el completo ensamblaje y producción de los viriones. La L1 constituye la proteína mayoritaria de la cápside y es la proteína más conservada entre todos los tipos de PVH. La L1 se ensambla con L2 en una proteína altamente estructurada que se requiere para la formación de partículas infecciosas completas.

9. Ensamblaje del virión.

10. Ruptura nuclear.

11. Liberación de la progenie viral.

De las tres etapas que se enumeran anteriormente se conoce muy poco. Las partículas virales completas pueden ser observadas en la capa granular del epitelio infectado, pero no en las capas más bajas. No se ha establecido que el virus provoque la lisis celular pues no existen evidencias de este tipo de fenómeno. La liberación de las partículas virales maduras ocurre en las capas córneas del epitelio queratinizado y tanto en los epitelios queratinizados como en los epitelios mucosos, la infección por PVH provoca severas aberraciones nucleares que reflejan la desestabilización y alteraciones cromosómicas de la célula infectada.

Patogenia y patología

Los papillomavirus presentan un tropismo específico por las células epiteliales e infectan tanto el epitelio queratinizado como el mucoso. Se localizan en la piel, tracto anogenital, cavidad oral, tracto respiratorio y conjuntiva, con una amplia gama de manifestaciones que abarcan desde la infección asintomática hasta la aparición de signos y síntomas de importancia clínica. Se reconoce la vía sexual más común de diseminación del virus.

La infección del cuello uterino por PVH puede ser asintomática o provocar una serie de manifestaciones que varían desde la presencia de condilomas benignos hasta la ocurrencia de alteraciones displásicas de diferentes grados y cáncer. Los exámenes citológicos e histológicos constituyen la base del análisis de estas lesiones pues ofrecen suficiente información para la evaluación clínica de los pacientes. La distinción de los diferentes estados patológicos tiene un alto valor pronóstico, ya que mientras los condilomas casi siempre permanecen como lesiones benignas, las neoplasias intraepiteliales cervicales (NIC) tienen una alta potencialidad de progresar al cáncer invasivo.

La infección se inicia en las células indiferenciadas que forman las capas basales del epitelio; este mecanismo es importante, ya que estas células en constante división constituyen una fuente de ADN viral que es distribuido a las células hijas durante la mitosis. La expresión de los genes está limitada en las capas basales, sin embargo, cuando las células infectadas comienzan a madurar y a ascender a través del epitelio, los genomas del virus continúan replicándose y se incrementa la actividad viral. El control de la expresión del virus parece estar estrechamente ligado a la diferenciación epitelial y es el resultado de una compleja interacción entre la célula y elementos virales reguladores.

Al nivel de queratinocitos la expresión de los genes de PVH puede manifestarse como una coilocitosis o una displasia. La primera se considera patognomónica de la infección y se caracteriza por la presencia de un halo perinuclear refringente y anomalías nucleares que incluyen irregularidad y aumento de tamaño. Las células epiteliales displásicas presentan trastornos en la maduración y organización celular, irregularidades nucleares y un aumento en el número de mitosis.

Estos cambios celulares se manifiestan al nivel tisular como:

1. Atipia, que se caracteriza por la presencia de algunos signos de la infección.
2. Condiloma, con presencia de coilocitos.
3. NIC, con presencia de células morfológicamente displásicas.
4. Cáncer invasivo, donde las células epiteliales displásicas atraviesan la membrana basal e invaden el estroma.

Los PVH pueden producir verrugas o papillomas. La morfología de las mismas es variable, dependiendo del tipo y localización del epitelio infectado. Las lesiones sobre el epitelio cutáneo de la vulva, pene y el área perianal son queratinizadas, mientras que las de la mucosa epitelial de la vagina, cérvix o mucosa rectal son muy suaves o poco queratinizadas. Las verrugas genitales se denominan condilomas acuminados cuando afloran a la superficie de la piel y condilomas planos cuando no lo hacen. En los hombres el condiloma acuminado se produce en el pene, alrededor del ano, periano y es raro encontrarlo en el escroto; en las mujeres en el introito vaginal, vulva, periano, ano y raramente en el cérvix.

La displasia epitelial se presenta como la pérdida de la orientación normal de las células, acompañada de alteraciones en el tamaño celular y la forma del núcleo. Estas anomalías celulares han sido denominadas comúnmente como neoplasias intraepiteliales cervicales o NIC.

En dependencia de la profundidad del epitelio que ha sido reemplazado por células inmaduras las NIC han sido divididas en 3 grados. Las lesiones con menos de un tercio de células del epitelio reemplazado por células inmaduras se clasifican como NIC I o displasia leve; aquellas en las que se ha afectado más de un tercio y hasta dos tercios del epitelio, como NIC II o displasia moderada, y por último, las que presentan más de dos tercios del epitelio dañado pudiendo llegar a abarcar la totalidad de este, como NIC III o displasia severa. Las formas más intensas de displasia, según infinidad de evidencias, constituyen una condición precursora del cáncer cervical.

El cuello uterino está revestido por epitelio pavimentoso estratificado en el ectocérvix y por epitelio cilíndrico simple glandular en el conducto cervical. El límite entre los dos epitelios es llamado zona de transición y es donde se establecen la mayoría de las neoplasias cervicales, aunque pueden hacerlo en uno de los dos epitelios. Si el proceso maligno se origina en el pavimentoso recibe el nombre de carcinoma celular escamoso, que constituye el 85 % de los carcinomas cervicales, y si se produce en el epitelio cilíndrico recibe el nombre de adenocarcinoma.

Ambos epitelios descansan sobre un estroma del que se hallan separados por una fina membrana basal. Mientras la neoplasia no afecte esta membrana recibe el nombre de carcinoma *in situ*, pero una vez que la atraviese y se sitúe en el estroma conjuntivo del corion se le denomina carcinoma microinfiltrante o invasor, este último, con alcance de los vasos linfáticos y sanguíneos, que son el punto de partida de las propagaciones y metástasis lejanas.

Es importante la distinción entre los diferentes estados histopatológicos, ya que mientras los condilomas casi siempre permanecen como lesiones benignas, las neoplasias intraepiteliales tienen una alta potencialidad de progresar al cáncer invasivo.

El conocimiento del tipo o los tipos de PVH relacionados con la enfermedad puede tener valor clínico. Los PVH 1 y 2 se han asociado con verrugas cutáneas, plantares y verrugas comunes. Los tipos 6 y 11 se han identificado fundamentalmente en condilomas acuminados y NIC de bajo grado que raramente progresan al cáncer. Los PVH 16, 18, 31, 33, 35 y 42 infectan el tracto anogenital y se han asociado con NIC de alto grado y cáncer cervical; de este último grupo, el tipo 16 es el más reportado y la infección por PVH 18 se asocia con un curso clínico más agresivo. Es más probable que los casos de NIC I progresen a NIC de alto grado cuando la infección es por PVH 16 y 18 que cuando es por PHV 6 y 11.

La infección por PVH en el pene puede provocar condiloma cuando se produce por los tipos 6, 11 y 42 y neoplasia intraepitelial peneal (NIP) cuando es producida por los tipos 6 y 33, que también pueden causar lesiones papulares e infectar la uretra donde se mantienen silentes.

Los PVH 5, 8, 17 y 20 provocan EV, en la que el paciente no es competente para resolver la infección viral que causa una verrugosis extensiva a todo el cuerpo y algunas lesiones pueden progresar a la malignidad. El PVH 5 se ha encontrado en tumores metastáticos y al igual que el tipo 8 en los carcinomas de la piel.

Los PVH 6 y 11 del tracto genital están relacionados con la papilomatosis respiratoria, en la cual las lesiones se presentan en la laringe, la tráquea, los pulmones y la nariz. En esta zona PVH puede provocar displasias severas semejantes a carcinomas *in situ*.

En la cavidad oral los PVH 13 Y 32 pueden producir hiperplasia epitelial focal, papilomas escamosos, otras lesiones verrugosas y cáncer oral.

Datos clínicos

De los 216 tipos de PVH existentes, aproximadamente 80 han sido totalmente secuenciados y estudiados y han logrado la secuenciación parcial de otros, 120 tipos. Hasta el momento se han reportado en la literatura internacional la clasificación de 77 tipos y el tipo de lesión o enfermedad con la que se han visto asociados. Los PVH se han dividido en dos grandes grupos: mucosos y cutáneos según el tipo de epitelio que infectan. Dentro de los PVH cutáneos, más de 15 han sido casi exclusivamente asociados a la epidermodisplasia verruciforme (EV), que es un raro trastorno dermatológico en el que los individuos afectados por lesiones extensivas asociadas a PVH son incapaces de sanar de forma espontánea o bajo tratamiento. El tracto genital es el principal reservorio de los PVH mucosos de los que se han identificado actualmente alrededor de 40 tipos. Algunos PVH que afectan el tracto ano

genital como los PVH 6 y 11 producen verrugas genitales y son predominantes entre otros PVH que infectan otros sitios mucosos como el tracto respiratorio, la cavidad oral y la conjuntiva. Otros tipos de PVH que también afectan el tracto ano genital como los PVH 16, 18, 45 y 31 se han visto asociados con el cáncer cervical. Otros dos tipos de PVH como el 13 y el 32 infectan exclusivamente la cavidad oral, donde se asocian con la patología conocida como hiperplasia epitelial focal. El significado clínico de las lesiones asociadas a PVH está determinado, fundamentalmente, por su localización, el tipo viral y los factores relacionados con el hospedero.

Verrugas cutáneas. Las verrugas pueden aparecer en cualquier sitio de la piel, aunque existen sitios favorecidos. La morfología de las verrugas es variable. Las verrugas comunes son redondeadas con múltiples proyecciones cónicas (papilomatosis), que le confieren una apariencia aterciopelada, localizándose, generalmente, en las manos donde aparecen en varios sitios a la vez. Las verrugas plantares se localizan en la superficie plantar de los pies y son caracterizadas por presentar una capa córnea ampliamente engrosada o hiperqueratosis. Las verrugas planas pueden presentar o no papilomatosis, estas casi siempre aparecen de forma múltiple y se localizan frecuentemente en los brazos, la cara y alrededor de las rodillas. Las verrugas de fibras filamentosas comúnmente pueden ser encontradas en la cara y el cuello. Las verrugas cutáneas son transmitidas de una persona a otra por contacto directo con el área de tejido infectada o pueden ser transmitidas por contacto con objetos contaminados. En un individuo infectado la transmisión de la infección de un sitio a otro puede ocurrir comúnmente por autoinoculación. Las verrugas aparecen, de forma general, en pequeña cantidad en el cuerpo y su talla es pequeña. Cuando estas aparecen en un número mayor de lo común es posible que este hecho esté ligado a estados de inmunodeficiencia.

Las verrugas cutáneas rara vez aparecen antes de los 5 años y son más frecuentes en niños mayores de esta edad y en adultos jóvenes. La escasa presencia de estas en personas de edad avanzada se justifica por la inmunidad que han adquirido frente a estas infecciones y a una menor exposición.

En actividades donde la piel puede ser dañada ligeramente, o en otros lugares donde el virus puede ser transmitido de una persona a otra como las arenas de las playas o en las piscinas, el contagio se facilita debido a un aumento en la exposición al virus, especialmente por esta vía se produce la aparición de verrugas plantares. En otros casos, como en los carniceros o en personas que manipulan alimentos cárnicos pueden presentar una alta incidencia de verrugas en las manos; este hecho, probablemente asociado al trauma repetido, asociado con este tipo de trabajo facilita la infección. Estas verrugas no son el resultado de la transmisión de los papillomavirus animales al hombre sino que el traumatismo provocado en la piel de las manos favorece la infección por el PVH tipo 7 que es el que se ha encontrado en estos casos. Aunque la correlación del tipo viral con la lesión no es absoluta existe una gran asociación entre el PVH 1 y las verrugas plantares profundas, entre el PVH 2 y las verrugas comunes, entre los PVH 3 y 10 y las verrugas cutáneas planas y entre el PVH tipo 7 y las conocidas verrugas de carniceros.

Epidermodisplasia verruciforme. Esta es una rara enfermedad en la cual el paciente es incapaz de resolver esta patología y algunas de las lesiones pueden progresar hacia la malignidad. Está distribuida por todo el mundo y a pesar de ser una rara enfermedad se caracteriza por presentarse en personas de una misma familia donde existe una historia de consanguinidad parental, lo cual indica que los factores genéticos están involucrados en la etiología de dicha enfermedad. La naturaleza del defecto genético o la manera precisa en que se hereda no se conoce y en algunos pacientes este desorden puede conllevar a retardo mental. La enfermedad, generalmente, comienza durante la infancia con lesiones verrugosas múltiples de variado polimorfismo diseminadas en la cara, el tronco y las extremidades, las cuales tienden a ser confluentes. En un paciente pueden aparecer dos tipos diferentes de verrugas: verrugas planas y placas maculares rojizas parecidas a la pitiriasis versicolor. En las verrugas planas presentes en estos pacientes se pueden detectar PVH tipo 3 y 10, mientras que en las placas maculares rojizas se pueden identificar varios de estos tipos virales (PVH 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20, y 25), los cuales pocas veces se pueden detectar en la población normal. En la mayoría de los casos, luego de algunos años del comienzo de la enfermedad aparecen focos de transformación maligna en las placas maculares rojizas localizadas en sitios del cuerpo expuestos a la luz solar. Histológicamente, las lesiones pueden

clasificarse como carcinomas *in situ* o como carcinomas invasores de células escamosas. Los tumores no producen metástasis y son de crecimiento lento. Esta enfermedad es un ejemplo clave de la influencia e interacción de los factores del hospedero (defecto genético), del tipo viral presente en la lesión y de factores ambientales (luz solar). No está esclarecido el hecho de que los pacientes con EV estén infectados por tipos virales que no son comunes en los individuos sanos, sin embargo, se presume que las infecciones producidas en personas sanas por tipos de PVH estrictamente asociados a la EV tienen un curso asintomático y, por tanto, no son diagnosticables.

Infecciones por PVH en el tracto genital. Las verrugas genitales (condilomas acuminados) se conocen desde hace siglos, pero su transmisión por vía sexual no quedó establecida hasta finales de los años sesenta. A mediados de los años setenta, H. zur Hausen, estableció la asociación de la infección por PVH con el cáncer cervical. Luego de muchos años de estudio y de gran cantidad de evidencias clínicas y de laboratorio, se estableció firme y concretamente la asociación etiológica entre las infecciones producidas por estos virus y el cáncer cervical. Existen datos concluyentes de que los PVH 6 y 11 son agentes causales de las verrugas exofíticas genitales, así como los PVH 16, 18, 33, 35, 45, 52 y 58 están asociados directamente al cáncer cervical.

Verrugas de la región anogenital. Las verrugas genitales son las lesiones clínicas que se asocian por excelencia a la infección por PVH. Los condilomas aparecen, generalmente, en adultos jóvenes y en individuos con marcada promiscuidad sexual. La edad de los pacientes con condiloma es muy similar a la de los pacientes con gonorrea. La presencia de condilomas en niños se debe a abusos sexuales. Las dos terceras partes de las parejas sexuales de los pacientes con condiloma desarrollan verrugas genitales luego de un período de incubación que varía de tres semanas a 8 meses. Los condilomas, como regla son floridos y exofíticos (condiloma acuminado). En los hombres, los condilomas exofíticos se localizan en el pene, alrededor del ano, en el periné y menos frecuentemente en el escroto. En las mujeres, estas lesiones se localizan en el introito vaginal, la vulva, el ano, el periné y raras veces en el cérvix uterino. En los individuos infectados con condiloma, este generalmente se localiza en más de un sitio del tracto genital. Muchas de las lesiones condilomatosas se eliminan espontáneamente o como respuesta a un tratamiento. En el caso de las mujeres embarazadas puede ocurrir un aumento en el número y la talla de los condilomas; luego ocurre la regresión a la normalidad después del parto. En poblaciones con estados de inmunosupresión como es el caso de pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) existen altos niveles de prevalencia de condilomas, los cuales pueden tener una evolución complicada y provocar serios problemas de salud en estos pacientes. Varios tipos de PVH se han asociados a los condilomas, siendo los PVH 6 y 11 los agentes causales de la mayoría de los condilomas exofíticos en todas las localizaciones posibles y el PVH 16 el responsable de al menos el 10 % de estas lesiones.

Cáncer cervical. Anualmente son diagnosticados en el mundo medio millón de nuevos casos de cáncer cervical invasivo. En los países desarrollados el cáncer cervical es la enfermedad maligna más frecuente y representa el 24 % de los cánceres que padecen las féminas, mientras que en los países subdesarrollados representa el 7 %. Los carcinomas celulares escamosos representan el 85 % de los cánceres cervicales y es considerado como una enfermedad de transmisión sexual. Luego de muchos estudios al respecto se considera que el comportamiento sexual es un factor determinante para el desarrollo del cáncer cervical, siendo el número de parejas sexuales el factor de riesgo esencial para su desarrollo. Las diferencias en los niveles de incidencia de cáncer cervical a escala mundial pueden ser explicadas sobre la base de tres factores: prácticas sexuales femeninas, prácticas sexuales masculinas y la accesibilidad a programas preventivos de salud como lo es la prueba citológica (*test de Papanicolau*) y el tratamiento de lesiones premalignas.

En Cuba existe un programa para la prevención del cáncer cervicouterino que se desarrolla en todo el país por el Ministerio de Salud Pública. Mediante este programa se le realiza la prueba citológica o *test de Papanicolau* a todas las mujeres sexualmente activas y mayores de 25 años. Este examen se realiza por las áreas de salud cada tres años bajo la orientación de los médicos de la familia y es totalmente gratis. Este programa ha permitido la detección precoz del cáncer cervicouterino en Cuba y por consecuencia la disminución de la tasa de incidencia de esta enfermedad en la población femenina de Cuba.

La mayoría de los cánceres cervicales se localizan en la zona de transformación, la cual se ubica en el extremo inferior del cérvix uterino, donde las células columnares del endocérvix se unen al epitelio escamoso estratificado de la vagina. Las células de la zona de transformación sufren transformaciones aceleradas y se vuelven particularmente vulnerables a la acción de los carcinógenos. El cáncer cervical invasivo es precedido por una serie de anormalidades progresivas en el epitelio cervical, esas anormalidades se han clasificado recientemente como lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y de alto grado, conocidas por las siglas en inglés (*Low Grade Squamous Intraepithelial Lesions* o LGSIL) (*High Grade Squamous Intraepithelial Lesions* o HGSIL), respectivamente. Existe una clasificación anterior y que es todavía utilizada, en la que las lesiones preinvasivas se denominan neoplasias intraepiteliales cervicales (NIC) de grados I, II y III. En este caso la clasificación de NIC I incluye los casos con displasia leve, la NIC II incluye casos con displasia moderada y la NIC III incluye aquellos casos con displasia severa o carcinoma *in situ*. La presencia de PVH en cánceres cervicales invasivos se ha comprobado entre el 80 y el 93 % de los casos, empleando técnicas diferentes, sin embargo, en estudios realizados por PCR, se ha podido detectar ADN de PVH en el 100 % de los casos. Aproximadamente la mitad de ellos están asociados a PVH 16, mientras que entre un 4 y un 24 % están asociados a PVH 18.

Infecciones del tracto respiratorio asociadas a PVH. Los PVH se han visto asociados a una gran variedad de papilomatosis respiratorias, siendo los PVH 6 y 11 los agentes etiológicos de la gran mayoría de estas lesiones. Se ha logrado probar la etiología viral de la papilomatosis laríngea causada por los PVH 6 y 11, los cuales son responsables de la mayoría de los condilomas genitales exofíticos. Los síntomas más frecuentes son los cambios o pérdida de la voz. Estos papilomas también pueden localizarse en las cuerdas vocales, la tráquea, los pulmones, la nariz y la cavidad oral. Los PVH también están asociados a lesiones cancerosas del tracto respiratorio y se ha logrado detectar ADN de PVH 16 en carcinomas verrugosos de la laringe. En trabajos publicados recientemente en Cuba y otros países se ha logrado identificar ADN de PVH 16 en el 50 % de los casos de pacientes con tumores laríngeos. Además se ha logrado clonar el genoma del PVH 30 aislado recientemente de un paciente con carcinoma laríngeo.

Infecciones de la cavidad oral asociadas a PVH. Las infecciones de la cavidad oral producidas por PVH son heterogéneas y su clasificación desde el punto de vista histológico resulta difícil. Los PVH 13 y 32 infectan exclusivamente la cavidad oral. Otras lesiones papilares de la cavidad oral se clasifican de la siguiente forma: *papiloma escamoso*, *condiloma acuminado* y *verruca vulgar*. La etiología viral de los papilomas escamosos se basa en manifestaciones como: la *coilocitosis*, la *queratinización* y la *acantosis*. La hiperplasia epitelial focal se caracteriza por una elevación discreta de los nódulos de la mucosa oral en múltiples sitios. Esta enfermedad se manifiesta en niños y en adultos jóvenes, pudiendo afectar a varios miembros de una misma familia. Las lesiones pueden persistir durante varios años, pero no progresan hacia la transformación maligna. Aunque numerosos estudios han reportado la existencia de gran variedad de tipos de PVH en estas lesiones, las investigaciones más recientes indican que los PVH 13 y 32 son los predominantes en esta enfermedad.

Inmunidad

La composición y competencia del sistema inmune indudablemente desempeña una función importante en la influencia de las infecciones por PVH. Existe una probabilidad más alta de la presencia del alelo Dq_w3 del complejo mayor de histocompatibilidad clase II entre pacientes con CC que entre individuos normales. La asociación entre alelos particulares del complejo mayor de histocompatibilidad y el CC en humanos provoca un incremento en la susceptibilidad a la infección por PVH o en la progresión a la enfermedad.

Evidencias patológicas y clínicas destacan la importancia de la respuesta inmune, especialmente de la respuesta celular. Se ha reportado que las verrugas son más frecuentes en condiciones en que el funcionamiento de las células T está deprimido, y que las mismas desaparecen cuando la inmunosupresión disminuye o se elimina. En pacientes con infecciones extensivas de papillomavirus genital se ha demostrado que la relación celular T4⁺/T8⁺ está alterada.

Muchas investigaciones de laboratorio confirman que la actividad de los efectores celulares no específicos de antígeno está deprimida en pacientes con NIC, ya que se ha detectado un bajo número de células de *Langerhans* adyacentes a las lesiones neoplásicas. Se plantea que esta depresión en la inmunidad local puede predisponer el avance a la malignidad. Además, la actividad de las células NK (del inglés Natural Killer), que se piensa tenga cierta importancia en la muerte de las células tumorales, está reducida frecuentemente en pacientes con carcinomas anogenitales.

Los estudios serológicos en busca de anticuerpos contra PVH no han sido muy útiles, muchos de ellos ofrecen resultados contradictorios y no permiten caracterizar la biología viral. Algunas explicaciones a estas dificultades se apoyan en la falta de una adecuada respuesta inmune contra PVH y en los problemas existentes en la producción de antígenos virales.

El epítipo más reactivo con el suero se origina del ORF L1, aunque se conoce que en la infección natural se sintetizan anticuerpos contra las proteínas E4, E7, E6, y E2 de PVH 16. En secreciones cervicales de pacientes con condilomas o NIC se demostró la existencia de IgA contra el péptido E2 de PVH 16 y se sugiere que la presencia de anticuerpos de este tipo puede servir como método de pesquisa de la infección por PVH 16.

Diagnóstico

Los métodos utilizados se apoyan en el examen citológico e histológico, en la detección del virus o sus productos y en los estudios serológicos.

A. Examen citomorfológico e histológico.

El diagnóstico de enfermedades cervicales se lleva a cabo con certeza por dos procedimientos confiables: los exámenes citológicos y las biopsias.

El análisis citológico se realiza por la técnica descrita por Papanicolau y empleando el sistema de clasificación establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1984, donde los extendidos cervicales pueden incluirse dentro de 10 categorías:

1. No útil.
2. Negativo de células malignas.
3. Infección por PVH.
4. Displasia leve (NIC I).
5. Displasia moderada (NIC II).
6. Displasia severa (NIC III).
7. Carcinoma *in situ*.
8. Carcinoma invasor.
9. Célula neoplásica de otro origen.
10. Infecciones por gérmenes infecciosos específicos u otras observaciones.

El examen mediante biopsia confirma el diagnóstico citológico, establece el tipo de tumor y determina si es *in situ*, microinfiltrante o invasor evidente, lo que permite definir la conducta terapéutica a seguir. Para tomar las biopsias se utiliza el colposcopio, que es un microscopio binocular de escaso aumento que permite una visión estereoscópica de la zona epitelial en estudio, diferenciando las lesiones del resto del epitelio mediante una solución de ácido acético al 5 %. Con este instrumento se detectan condilomas, NIC y otras alteraciones en los patrones vasculares y topográficos.

B. Detección del virus o sus productos.

Microscopia electrónica. La sensibilidad del microscopio electrónico para detectar partículas virales en las lesiones está en un rango del 10 al 50 %. La morfología de todos los tipos de PVH observados es idéntica, por lo que este método no puede proporcionar la tipificación del virus.

Hibridación. La hibridación molecular es la reacción de asociación que ocurre entre dos cadenas de ácidos nucleicos con cierto grado de homóloga. El apareamiento está determinado por varios parámetros, que incluyen, la temperatura, la concentración de sales y la fuerza iónica del medio.

Esta técnica ha sido utilizada en sus múltiples variantes para la detección de genomas de PVH en muestras clínicas de tejidos o células infectadas. Aunque la Reacción en Cadena de la polimerasa es mucho más sensible, la hibridación continúa siendo la técnica de referencia.

1. Dot-Blot (Hibridación en mancha).

Esta variante resulta de gran utilidad no solo para muestreos masivos de un gran número de casos sino también para el análisis de los productos de la RCP y su comparación con esta técnica. En esta variante el ADN es desnaturalizado por tratamientos alcalinos o con calentamiento o ambos. Luego de este tratamiento desnaturalizante el ADN es inmovilizado en un soporte sólido que puede ser un filtro de nitrocelulosa o nylon que se corta a la talla deseada. Posteriormente, se hace reaccionar con un fragmento del genoma de PVH (sonda) marcado de forma radiactiva, y si existe homología entre la sonda y la muestra, la radiactividad persiste en el filtro y el híbrido puede ser detectado mediante autorradiografía. Este método requiere poca cantidad de ADN (300 a 500 ng) para detectar la presencia del virus; es una técnica de elevada sensibilidad que en muchos casos puede ser utilizada como un amplificador de la respuesta de la técnica de PCR al hibridar los productos amplificados con sondas específicas. Esta metodología permite amplificar varias veces la señal en aquellos casos en que una electroforesis en gel de agarosa de los productos de la RCP resulta de baja resolución y difícil de interpretar por el investigador debido a factores subjetivos.

A pesar de que esta técnica es muy sensible en algunas ocasiones presenta la desventaja de que pueden aparecer falsos positivos, lo que puede ser evitable y controlado, al modular las condiciones de hibridación y al extremar las condiciones de astringencia para así lograr la mayor especificidad posible.

Esta técnica tiene una gran utilidad en la tipificación de infecciones por PVH al emplear como sondas los genomas completos de los diferentes genotipos virales bajo condiciones de alta astringencia o al emplear como sondas las regiones internas de los productos amplificados por la RCP lo cual permite tipificar aun con más precisión los tipos de PVH detectados de forma más frecuente con el empleo de oligonucleótidos consenso. Se utiliza también para confirmar infecciones mixtas por PVH donde el resultado no puede ser determinado si se utiliza la RCP al emplear oligonucleótidos consenso.

2. Hibridación *in situ* Filter.

En esta variante no se requiere una previa extracción y purificación del ácido nucleico. Las células de la muestra se colocan directamente sobre el filtro y se les aplica un tratamiento que provoca la lisis celular y deja expuesto el ADN, que posteriormente es desnaturalizado y neutralizado, para hacerlo hibridar con la sonda marcada. Es un método simple, en el cual también aparecen con cierta frecuencia casos falsos positivos.

3. Hibridación por *Southern Blot*.

Este método consiste en extraer el ADN a partir de las muestras clínicas, digerirlo con enzimas de restricción, separar los fragmentos de restricción en un gel de agarosa, desnaturalizar el ADN en el gel para transferirlo a un filtro de nitrocelulosa o membrana de nylon y finalmente hibridar los fragmentos inmovilizados en la membrana o filtro con una sonda marcada. El *Southern Blot* es considerado la técnica de referencia para la tipificación de PVH y su especificidad está determinada por un control adecuado de las condiciones de hibridación. Presenta un bajo límite de detección de ADN que corresponde aproximadamente a 10^6 genomas de PVH por muestra; cuando el número de copias está por debajo de este valor las muestras pueden ser interpretadas como falsos negativos. Para garantizar que la cantidad de ADN esté por encima del límite de detección y evitar la obtención de falsos negativos es necesaria una cantidad de 5 a 10 μg de ADN.

La mayoría de las técnicas de hibridación implican la utilización de fósforo radiactivo (P^{32}) que además de ser dañino para la salud del operador, tiene un tiempo de vida media muy corto. Los métodos de marcaje no radiactivos se han empleado con éxito en los protocolos de hibridación para la detección de PVH, ya que evitan las dificultades que implica el trabajo con sustancias radiactivas y permiten la extensión de estos procedimientos a los laboratorios convencionales que no están adecuadamente preparados para la manipulación de isótopos radiactivos.

El método de hibridación en captura ha sustituido al *Southern Blot* en la detección de PVH en los dos últimos años. Esta técnica, con una elevada sensibilidad combina el fundamento de los protocolos de hibridación con la metodología de los ensayos inmunoenzimáticos.

Se basa esencialmente en la hibridación del ADN de la muestra clínica con un riboprobe (sonda de ARN) y el posterior reconocimiento de este híbrido por un anticuerpo conjugado con la enzima quimioluminasa. De este modo, se logra detectar ADN de PVH con mayor sensibilidad, se elimina la ardua y laboriosa manipulación del *Southern Blot* y el riesgo de trabajar con isótopos radiactivos.

Reacción en cadena de la polimerasa. La PCR es un método *in vitro* que permite la amplificación selectiva de secuencias específicas de ácidos nucleicos mediante síntesis enzimática. Fue creada por Kary Mullis, en 1985 y desde entonces ha sido ampliamente utilizada en investigaciones de biología molecular, el diagnóstico microbiológico y el análisis forense. El método consiste en la repetición de ciclos de síntesis que cuentan con tres reacciones secuenciales:

1. Desnaturalización de la cadena molde por calor.
2. Hibridación de los cebadores al ADN desnaturalizado.
3. Extensión o polimerización de la nueva cadena de ADN a partir del cebador por una polimerasa.

La amplificación se realiza utilizando oligonucleótidos sintéticos que flanquean la región diana e hibridan en cadenas opuestas del ADN. Los productos de cada ciclo de síntesis son utilizados como molde en el ciclo siguiente, por lo que la amplificación presenta una cinética exponencial.

La detección de los productos amplificados se realiza mediante una electroforesis en gel de agarosa en presencia de patrones de peso molecular; el ADN es marcado con bromuro de etidio y visualizado con luz ultravioleta. Pueden realizarse ensayos de hibridación a los productos de la RCP que permiten el análisis de la especificidad de la técnica y la detección de fragmentos amplificados con una baja eficiencia. La digestión con enzimas de restricción y la secuenciación también son herramientas muy útiles para determinar la especificidad del ensayo.

Parámetros de la reacción:

1. Cebadores: presentan una sola cadena de ADN y su longitud oscila entre 15 y 30 nucleótidos. Se seleccionan delimitando la región a amplificar y la especificidad de su unión al molde depende de la homología que exista entre ambos. La distancia entre los cebadores está definida como la talla del producto amplificado que puede oscilar desde 100 hasta 2 000 pares de bases. No deben tener secuencias cohesivas y deben ser chequeados por homología con todas las posibles secuencias de ADN presentes en el molde complejo.
2. Enzima: la polimerización en los primeros ensayos se realizó con el fragmento Klenow de la polimerasa de ADN tipo I de *Escherichia coli*; esta enzima se inactivaba por las altas temperaturas de desnaturalización y por tanto se necesitaba la adición de la misma al inicio de cada ciclo de amplificación. La introducción de la polimerasa de ADN termoestable derivada de *Thermus aquaticus* (Taq) simplifica el proceso y permite su automatización, lo cual ha acelerado la aplicación de la RCP a procedimientos diagnósticos. La temperatura óptima de trabajo de la Taq polimerasa se encuentra entre los 75 y los 80 °C, rango en el cual incorpora 60 nucleótidos/segundo/molécula; por encima de 90 °C su actividad se limita, pero se mantiene relativamente estable.
3. Buffer: debe contener 50 mM de KCl, 10 mM de Tris HCl pH 8,3-8,8, 100 µg/mL de gelatina, 1,5 mM de MgCl₂, y detergentes no iónicos como el Tween 20 para estabilizar la enzima. La concentración de MgCl₂ puede afectar la unión de los cebadores, la temperatura de disociación de las cadenas, el producto de amplificado y la actividad enzimática.
4. Deoxinucleótidos trifosfatados (dNTP): tienen una alta estabilidad. Se utilizan bajas concentraciones que aumentan la especificidad de la reacción; generalmente se incluyen 200 mM de cada dNTP para evitar una incorporación deficiente.
5. Molde: no se necesita una alta cantidad ni calidad de ADN para realizar la PCR, el ácido nucleico en una muestra cruda puede servir como molde siempre que esta no contenga inhibidores de la Taq polimerasa.

Condiciones de amplificación:

1. Número de ciclos: la reacción estándar requiere de 30 a 40 ciclos. Todos los ciclos son iguales, excepto el primero que tiene un paso de desnaturalización prolongado, y el último que presenta un largo tiempo de extensión.
2. Temperatura: una temperatura de desnaturalización de 94 °C es adecuada en la mayoría de los casos. La temperatura de hibridación oscila entre 40 y 60 °C, depende de la composición de nucleótidos de los cebadores y esta determina la especificidad de la reacción de amplificación; se determina con el empleo de la siguiente fórmula: $T_a = T_m - 5\text{ °C} = 2(A + T) + 4(G + C) - 5\text{ °C}$, donde T_a es la temperatura de hibridación del cebador y T_m su temperatura de fusión. La temperatura de elongación que garantiza un funcionamiento óptimo de la Taq polimerasa es 72 °C.
3. Tiempo de reacción: el primer ciclo de desnaturalización necesita entre 5 y 10 min, que se reduce a solo uno en el resto de los ciclos. El tiempo de hibridación es variable y depende de la temperatura de hibridación de los cebadores; oscila de 20 a 120 s. El tiempo de elongación varía en función de la longitud del fragmento a amplificar.

Contaminaciones:

Por la alta sensibilidad de la técnica, las contaminaciones constituyen un serio problema. Pueden estar dadas por varios factores y producen con facilidad resultados falsos positivos. Las tres fuentes fundamentales de contaminación son las muestras clínicas entre las que se produce con facilidad intercambio de material genético, los reactivos contaminados, y por último, la acumulación de productos de la RCP por la amplificación repetida de una misma secuencia en el laboratorio. Se recomienda para evitarlas utilizar soluciones dispensadas en alícuotas de forma previa, emplear pipetas de desplazamiento positivo, separar físicamente el área de reacción del área de análisis de los productos amplificados, e incluir controles negativos y positivos entre otras medidas.

También pueden aparecer resultados falsos negativos debido a la alteración de alguno de los parámetros o condiciones de la reacción, la presencia de un bajo número de copias, o la existencia de variabilidad en el genoma, por lo que se recomienda que los cebadores deben ser complementarios a secuencias dianas de regiones conservadas.

La PCR es la técnica más sensible empleada hasta el momento en la detección de ADN de PVH. Para la obtención de resultados positivos en muestras clínicas son necesarias pocas copias virales. La sensibilidad depende de varios factores, que incluyen la variante de amplificación utilizada, la especificidad de los cebadores y el modo de detección de los productos amplificados. Puede detectarse un solo tipo viral con la utilización de cebadores que se unan a secuencias específicas de este, o pueden detectarse varios tipos simultáneamente ya sea con el uso de una mezcla de cebadores específicos o con el empleo de cebadores generales o consenso.

Los cebadores consenso se seleccionan al tener en cuenta la existencia de secuencias conservadas entre varios tipos de PVH. Su utilización ha reportado ventajas respecto a los cebadores específicos, ya que con ellos se amplía el espectro de detección de PVH, pueden detectarse tipos de PVH no secuenciados, e incluso tipos desconocidos.

La tipificación está limitada, frecuentemente, a los tipos más comunes y se lleva a cabo por secuenciación, análisis con enzimas de restricción, hibridación con sondas específicas o por una PCR adicional para un determinado número de tipos.

Actualmente la reacción en cadena de la polimerasa ha permitido conocer que cerca de 20 tipos de PVH están asociados a carcinomas y son considerados de alto riesgo, entre ellos los PVH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 54, 56, 58, 59 y 66; y que otro grupo diferente de tipos se asocia a lesiones cervicales benignas y representan un bajo riesgo de desarrollar cáncer invasivo, como por ejemplo, los siguientes tipos, PVH 6, 11, 34, 40, 42, 43 y 44. Debido a esto se han desarrollado muchos procedimientos diagnósticos basados en la clasificación de PVH en grupos con diferentes comportamientos biológicos en lugar de la tipificación individual.

Esta técnica no solo se emplea en la detección de genomas de PVH y su tipificación, sino también en la determinación del estado físico del genoma del virus en las lesiones. Se piensa que la integración del ADN viral en el cromosoma de la célula hospedera es esencial para la progresión al cáncer. La región E2 es frecuentemente escindida en el proceso de integración.

Una PCR en el que los cebadores se unan a esta región permite determinar el estado episomal o integrado del genoma de PVH en las células infectadas.

Serología. El desarrollo de técnicas serológicas que permitan la detección de anticuerpos específicos contra los diferentes tipos de PVH está limitado por la gran cantidad de tipos existentes y la alta homología que presentan las proteínas de la cápside de estos virus. Otra dificultad está referida a la obtención de la cantidad necesaria de antígeno viral para estas pruebas, ya que PVH no se replica *in vitro* y en las lesiones existe poca cantidad de virus intactos o cápsides proteicas. El empleo de técnicas de biología molecular ha permitido hasta cierto punto superar este problema, pues se han creado de forma artificial antígenos recombinantes y péptidos sintéticos para emplearlos en la detección de anticuerpos específicos en el suero de pacientes.

La serología es de gran ayuda en estudios epidemiológicos porque permite realizar análisis inmediatos o retrospectivos de la infección por PVH. La detección de anticuerpos específicos contra determinados tipos de virales considerados de alto riesgo, permite definir qué pacientes pueden desarrollar carcinoma cervical.

Propagación en cultivo de tejidos. Ninguno de los papillomavirus conocidos hasta el momento ha sido propagado exitosamente en cultivo celular. Cuando los viriones derivados de extractos de verrugas son inoculados en cultivo de queratinocitos el ADN se replica en forma extra-cromosomal y solo se transcriben algunos genes virales; sin embargo, no se ensamblan partículas virales, ni se sintetizan proteínas de la cápside, no se produce efecto citopático y el ADN viral se pierde luego de unos pocos pases. En el cultivo de queratinocitos de verrugas tampoco se ha obtenido progenie viral.

Los fallos en la propagación del virus en queratinocitos pueden radicar en que la diferenciación celular completa que se requiere para la producción de partículas virales no se lleva a cabo en ninguno de los cultivos de tejidos estudiados.

Se han podido obtener poblaciones virales cuando se exponen fragmentos de tejido susceptibles (epitelio cervical) frente a extractos de condilomas que contienen viriones de PVH 11, y estos son transplantados debajo de la cápsula renal de ratones desnudos carentes de timo. Las células de estos tejidos se multiplican, forman quistes y luego de un período de tres a seis meses aparecen efectos citopáticos y una arquitectura celular similar a la del condiloma. En el sistema se producen proteínas virales de la cápside y PVH 11 infeccioso, que puede conservarse mediante pases en este mismo sistema experimental. Otros tipos de PVH no se han logrado multiplicar de esta forma.

Epidemiología

La asociación entre un agente etiológico transmisible sexualmente y el cáncer cervical ha sido reconocida desde hace varias décadas y apoyada por múltiples evidencias epidemiológicas. Los datos históricos incluyen:

1. Elevada proporción de CC entre esposas de hombres con cáncer de pene.
2. Agrupaciones de CC y cáncer de pene por áreas geográficas.
3. Alto número de parejas y temprana edad de las primeras relaciones sexuales.

La complementación de los métodos epidemiológicos clásicos con técnicas sensibles de detección molecular como la PCR ha cambiado bruscamente la precisión con la que se llega a conclusiones en la búsqueda de relaciones entre las NIC, el CC y un agente etiológico transmisible sexualmente. Múltiples estudios apoyan que la carcinogénesis le sea atribuida a PVH.

Existen fuertes evidencias que permiten asociar a los tipos de PVH de los diferentes grupos de riesgo con los distintos grados de lesiones intraepiteliales escamosas. Las razones por las cuales algunos tipos están más fuertemente asociados al CC invasivo que otros no están completamente claras; sin embargo, diferencias en el comportamiento biológico y en los niveles de expresión de las proteínas E6 y E7 pueden representar una explicación parcial.

En general, la infección cervical y sus manifestaciones citológicas tempranas, atipia y NIC I, son relativamente comunes entre mujeres jóvenes sexualmente activas; mientras que

las NIC III y el CC invasivo son más probables entre mujeres de edad avanzada. Las NIC son importantes clínicamente, ya que se piensa que sus grados II y III son precursores del CC invasivo.

Las infecciones por PVH pueden hacerse latentes o ser eliminadas por el individuo, posiblemente a través de mecanismos de control inmunológicos. Datos preliminares sugieren que el ADN de PVH puede permanecer indetectable por un período de uno a dos años después de la infección.

La infección genital por PVH es común en los hombres, apareciendo condiloma acuminado en el pene, escroto y a veces en la ingle. La enfermedad maligna en el hombre tiene baja incidencia, aunque se ha visto que en hombres homosexuales afectados por el VIH el cáncer anal asociado a PVH ha alcanzado índices más elevados en los últimos años que el cáncer cervical en la población femenina. Este es un elemento de importancia relevante que se ha publicado recientemente sobre la base de estudios realizados en amplios grupos de hombres homosexuales en Estados Unidos.

Las infecciones de la mucosa y los genitales se incrementan cada año a miles de casos ocurriendo usualmente en individuos de 18 a 30 años en plena actividad sexual. Esto conlleva a un aumento del riesgo a padecer carcinoma en el cérvix o en otras áreas del tracto genital.

Estudios recientes en los que se han utilizado técnicas como la PCR revelan que solo una pequeña proporción de individuos positivos a PVH desarrolla enfermedad detectable clínicamente, sugiriendo que la infección con el virus puede no ser suficiente para el desarrollo de enfermedad cervical y que debe ser considerada la influencia de varios factores en la patogénesis del cáncer.

La temprana edad de las primeras relaciones sexuales y el número de parejas son factores de riesgo para la enfermedad cervical. Una temprana edad puede ser uno de los factores de riesgo más importantes, ya que el período de maduración sexual es una etapa de alta actividad regeneradora que permite la expansión lateral de células que portan el genoma viral y una rápida proliferación de células infectadas. El aumento del número de parejas incrementa la probabilidad de contraer PVH, ya que es mayor la posibilidad de contacto con individuos infectados.

Una gran cantidad de evidencias asocia el hábito de fumar y el CC. Estudios realizados empleando la PCR en los que los pacientes infectados fueron divididos en grupos con lesiones de alto y bajo grado demostraron que el mayor porcentaje de fumadores se encontraba en los grupos de individuos con lesiones de alto grado. Además, se ha detectado nicotina en las secreciones mucosas del cérvix de mujeres fumadoras y se plantea que los productos del tabaco pueden producir un decrecimiento en las concentraciones de células de *Langerhans* en el epitelio cervical normal, provocando un déficit inmunológico que permite la infección y persistencia del virus.

Algunos estudios estadísticos realizados en Cuba y otros países como Colombia, España y Estados Unidos sugieren una relación entre la infección por PVH y el uso de anticonceptivos orales. Se plantea que este es un factor que puede incrementar la expresión del genoma del virus en la mucosa cervical de mujeres que utilizan esta forma de anticoncepción.

Efectos protectores con respecto al riesgo de padecer CC han sido atribuidos a la dieta, especialmente al consumo frecuente de comidas ricas en beta carotenos, vitamina C y en menor cantidad vitamina A. Es probable que este factor sea importante en la explicación de las diferencias regionales que existen en la incidencia de CC en varios países.

La multiparidad fue un factor considerado en el pasado, pero ha perdido importancia, y actualmente se piensa que tener hijos no sea un acontecimiento causal importante. Dos estudios realizados en Estados Unidos y América Latina respectivamente demuestran la independencia del número de partos del riesgo de las mujeres de padecer CC.

Otros factores descritos son la predisposición genética como factor individual que determina diferencias en la susceptibilidad entre los individuos, los componentes del esperma y el fluido seminal y el probable papel que puedan desempeñar otras enfermedades de transmisión sexual.

El conocimiento de los factores de riesgo epidemiológicos y el efecto de los mismos en la biología molecular de la célula y de PVH ha permitido grandes progresos en la comprensión de la patogénesis del CC.

Recientemente se han realizado varios estudios multicéntricos en 22 países y 4 continentes. Estos estudios han estado dirigidos, auspiciados y financiados por la Agencia Internacional de Investigaciones del Cáncer conocida por las siglas IARC, de su nombre en Inglés. Estos estudios tuvieron como objetivo determinar los índices de prevalencia de PVH en una parte representativa del mundo, así como determinar los tipos de PVH más frecuentes con vistas a establecer futuras estrategias de vacunas. Como resultado de estos estudios se logró detectar ADN de PVH por la técnica de PCR en el 99 % de los casos analizados, por lo cual se presentaron los siguientes porcentajes de prevalencia por tipo viral: PVH 16 se encontró en el 53 % de los casos, PVH 18 en el 15 %, PVH 45 en el 9 %, PVH 31 en el 6 % y PVH 33 en el 3 % de las muestras estudiadas. Como conclusión se estableció que el PVH 16 es el más frecuente en todos los continentes y el PVH 18 es el más comúnmente detectado en el sudeste asiático.

Los estudios realizados en Cuba sobre prevalencia de PVH en grupos de riesgo de la población femenina son escasos y hasta el momento no concluyentes, pero ya se han obtenido algunos resultados que indican que el tipo de PVH más frecuente en las poblaciones estudiadas es el PVH 16, aunque también aparecen otros tipos que incluso pueden coinfectar una misma paciente. Los grupos de riesgo que se estudian, actualmente, son las mujeres que presentan citología cervical alterada, pacientes con afecciones malignas de cabeza y cuello y mujeres seropositivas al VIH, entre otros.

Tratamiento, prevención y control

El tratamiento de enfermedades asociadas a PVH depende de varios factores, que incluyen, la histopatología, la localización y el grado de la lesión. La terapia que se aplica consiste en el uso de antimetabolitos, estimuladores de la respuesta inmune y en la eliminación física del tejido infectado.

La podofilina es una resina utilizada en el tratamiento del condiloma acuminado, que funciona probablemente como un inhibidor de la división celular. Se ha empleado en el tratamiento de verrugas de la vulva y el pene, en las que produce una reacción inflamatoria aguda que permite la degeneración del epitelio. Una alta proporción de pacientes recibe tratamiento efectivo con este fármaco, pero puede haber recurrencia en un 50 % de los casos aproximadamente. La aplicación de esta resina puede provocar toxicidad local, inflamación aguda, erosión epitelial y dolor.

El ácido tricloroacético (TCA) es un cáustico químico utilizado durante muchos años en la terapia del condiloma acuminado ano genital. El agente puede emplearse en lugar de la podofilina, y es muy frecuente su uso en pequeñas lesiones vaginales. A veces causa irritación y dolor, por lo que se aplica preferentemente en superficies no mucosas como la vulva y el pene.

Las lesiones vaginales mayores de 2 a 3 cm son tratadas con crioterapia o terapia láser. La crioterapia utiliza una sonda que es congelada con nitrógeno líquido y se coloca contra la superficie del cérvix. Se forma una bola de hielo que se extiende 3 ó 4 mm más allá del borde de la lesión, asegurando una adecuada destrucción del epitelio anormal. La terapia láser se utiliza en lesiones de alto grado, ya que permite una gran precisión en la profundidad del área tratada, la cicatrización es más rápida, y además preserva mejor la zona de transición cervical, y facilita el seguimiento colposcópico de los pacientes.

El 5-flúor-uracilo (5-FU) se ha empleado, especialmente, en neoplasias y condilomas. Su mecanismo primario de acción es la inhibición de la síntesis de ADN a través de su unión a la enzima timidilato sintetasa, aunque también se une al ARN y reprime su síntesis. Este fármaco se absorbe preferentemente por los tejidos anormales y provoca una intensa inflamación que separa la epidermis de la dermis en la zona lesionada; los tejidos adyacentes a la lesión son poco dañados.

Las tres clases principales de interferón (alpha, beta, gamma) han sido estudiadas clínicamente en el tratamiento de condiloma acuminado. Se piensa que estos compuestos actúan a múltiples niveles. Recientemente se aprobó la utilización del interferón recombinante Alpha-2b en el tratamiento intralesión de los condilomas genitales acuminados, principalmente cuando son resistentes a otras formas de terapia.

La conización cervical es un procedimiento en el cual se hace necesario eliminar quirúrgicamente una gran porción del ectocérvix y el canal endocervical. El método es usualmente curativo y sus mayores complicaciones son la incompetencia cervical, los sangramientos, diferentes infecciones y el riesgo de la anestesia general.

Los retinoides son un grupo de compuestos que comparten propiedades biológicas con la vitamina A y desempeñan una función importante en la visión, el crecimiento normal y la diferenciación epitelial. Han sido utilizados en el tratamiento de NIC de grados I y II.

En resumen, las NIC deben ser tratadas con crioterapia, terapia láser o quirúrgicamente en los casos en los que la extensión de la lesión es desconocida o las mismas se encuentren en el canal endocervical, más allá del alcance de otras modalidades terapéuticas. Las lesiones vaginales pueden ser tratadas con terapia láser, 5-FU y ocasionalmente con crioterapia, TCA o cirugía. Las lesiones de la vulva y el pene pueden ser tratadas con podofilina, TCA, láser o crioterapia. Las lesiones resistentes a cualquiera de estos tratamientos pueden responder al interferón, ya sea administrado de forma local o sistémica.

En este Capítulo se ha podido apreciar el riesgo que constituyen las infecciones por PVH, principalmente los PVH de alto riesgo que están asociados a la mayoría de los casos de cáncer cervical. Afortunadamente, con la aplicación de las técnicas de biología molecular y el estudio del comportamiento biológico de estos virus se han logrado obtener varios candidatos de vacunas, tanto profilácticas como terapéuticas. A pesar de esto, todavía se requiere de programas de evaluación adecuados. Para estas futuras vacunas las expectativas son favorables, sin embargo, las primeras pruebas en humanos a pequeña escala aún requieren un período de tiempo de al menos 6 años. Hasta el momento se han obtenido vacunas terapéuticas que se han probado en modelos animales, vacunas profilácticas que también se han inoculado a animales de experimentación con buenos resultados y recientemente se han comenzado los trabajos con partículas virales vacías (VLP, del inglés *virus like particles*) como inmunógenos, las cuales han mostrado un buen potencial terapéutico. La prevención y el control de las infecciones producidas por PVH es un reto para los años futuros de la ciencia en el mundo.

RESUMEN

La familia *Papovaviridae* se encuentra dividida en dos subfamilias, *Polyomavirinae* y *Papillomavirinae*. Esta familia se caracteriza, en general, porque los virus que la integran presentan talla pequeña, virión desnudo, cápside icosaédrica, genoma de ADN circular de doble cadena superenrollado y el núcleo constituye el sitio donde ocurre la multiplicación viral. Los papillomavirus integran la subfamilia *Papillomavirinae* y sus miembros se caracterizan por presentar genomas más grandes, y por su importancia en las enfermedades humanas. La organización del genoma difiere significativamente entre las dos subfamilias. Los virus que integran la subfamilia *Polyomavirinae* se conocen con el nombre genérico de *Polyomavirus* e infectan principalmente animales de diferentes especies incluyendo aves, roedores, conejos, ganado, hámsteres y primates, presentando un rango estrecho de hospederos. Este grupo viral no causa tumores en sus huéspedes naturales, sin embargo, pueden inducir transformación en células de cultivo y causar tumores en animales de experimentación.

Existen dos polyomavirus humanos que fueron aislados, en 1971, y se conocen como BKV y JCV. Ambos infectan humanos en edades tempranas, están distribuidos ampliamente a escala mundial y se mantienen de forma latente en la mayoría de la población sin causar infección aparente. Los papillomavirus comprenden un amplio grupo viral que incluye hasta la actualidad un total de 216 tipos identificados. Se presentan con una marcada heterogeneidad siendo los papillomavirus humanos (PVH) los de mayor importancia médica. Las infecciones producidas por estos virus causan una gran variedad de lesiones benignas que incluyen las conocidas verrugas o papilomas, quistes epiteliales, neoplasias intraepiteliales y papilomatosis anogenital, orolaringea y faríngea, así como queratoacantomas y otros tipos de hiperqueratosis. Este grupo de virus también se ha visto asociado a la etiología de la mayoría de los cánceres humanos. Específicamente los PVH tipo 16 y 18 han sido identificados como agentes causales de al menos el 90 % de los cánceres cervicouterinos y al 50 % de otros tipos de cáncer.

BIBLIOGRAFÍA

- de Villiers EM. The human pathogenic papillomavirus types: an update. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994; 186: 1-12.
- Eckhart W. Polyomavirinae and Their Replication. *In: B N Fields, D M Knipe, et al, editores. Virology. 2a. Ed. New York: Raven Press, 1990.*
- Howley P M. Papillomavirinae: The Viruses and Their Replication. *In: B N Fields, D M Knipe, Howley P M, et al, editores. Virology. 3a. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996.*
- Kadish MD, Hagan MS, Ritter MD. Biologic characteristics of Specific Human Papillomavirus Types Predicted From Morphology of Cervical Lesions. *Human Pathol* 1992; 23(11): 1262-69.
- Kleter B. Novel Short-Fragment PCR Assay For Highly Sensitive Broad-Spectrum Detection of Anogenital Human Papillomavirus. *Amer J of Pathol* 1998; 6 (153): 1731-39.
- Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. Molecular cloning: a Laboratorie Manual. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, New York, 1982; 93-100, 466.
- Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* 1990; 256: 65-75.
- Palefsky JM, Holly EA. Molecular Virology and Epidemiology of Human Papillomavirus and ervical Cancer. *Cancer Epidemiol, Blomarkers and Prev* 1995; 4: 415-18.
- Schiller J T, Okun M M. Papillomavirus Vaccines: Current Status and Future Prospects. *Advances in Dermatology* 1996; vol (11): 355-81.
- Shah K V, Howley P M. Papillomavirus. *In: B N Fields, D M Knipe, et al, editores. Virology. 2a. Ed. New York: Raven Press, 1990.*
- Shah K V, Howley P M. Polyomavirus. *In: B N Fields, D M Knipe, et al, editores. Virology. 2a. Ed. New York: Raven Press, 1990.*
- Shah K V, Howley P M. Papillomavirus. *In: B N Fields, D M Knipe, Howley P M, et al, editores. Virology. 3a. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996.*
- Yiitalo N, Bergstroen T, Gillensten U, et al. Detection of genital human papillomavirus by single tube nested PCR and type specific oligonucleotide hibridization. *J Clin Microbiol* 1995; 33(7): 1822-28.
- Soto Y, Marrero M, Gomezalzugaray M, Muné M, Valdés O. Prevalencia de Papillomavirus Humano tipo 16 en mujeres que asisten a Consultas de Planificación Familiar. *Revista CNIC* 1995 Número Especial: 9.
- Soto Y, Valdés O, Muné M, Ramírez R, Pimentel T. Detección de Papillomavirus Humanos (PVH) en Tumores Laringeos Embebidos en Parafina. *Medical Applications of Biotechnology* 1997 (4): D-42.
- Soto Y. Aplicación de la Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa para la Detección de Secuencias de Papillomavirus Humano. *Rev. Cub. Med. Trop* 1998; 3 (50): 191-8.
- Soto Y, Muné M, Valdés O, Ramírez R, Pimentel T. Detection of Human Papillomavirus DNA in Formalin-Fixed Invasive Squamous Cell of the Larynx by Polymerase Chain Reaction. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1998 4 (93): 439-40.
- Soto Y, Muné M, Valdés O, Gómezalzugaray M, Arteaga E. Relationship between different Contraceptive Methods and Human Papillomavirus Type 16 infection in Cuban Women. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, en prensa.
- zur Hausen H. Papillomavirus infections – a major case of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1288: 55-78.



Herpesvirus

Belsy Acosta Herrera

INTRODUCCIÓN

La familia de los *herpesvirus* está constituida por varios patógenos que son capaces de causar una diversidad de enfermedades en el humano.

Los herpesvirus que con mayor frecuencia infectan al hombre incluyen al virus herpes simple tipo 1 y 2, citomegalovirus, virus *Epstein-Barr*, herpesvirus humanos 6 y 7 y el herpesvirus 8 asociado con el sarcoma de Kaposi.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

El virión tiene una talla que oscila en el rango de 120 a 300 nanómetros (nm), y está constituido por:

1. El core que contiene el ADN (ácido desoxirribonucleico) viral de doble cadena, lineal y en algunas ocasiones forma un torus.
2. Una cápside icosaédrica de aproximadamente de 100 a 110 nm de diámetro y compuesto de 162 capsómeros, 12 de ellos son pentaméricos y están situados en los vértices, y 150 hexaméricos.
3. Un material amorfo, algunas veces asimétrico, el cual rodea la cápside y es designado como tegumento y su grosor influye en la variabilidad de la talla del virión.
4. Una membrana conocida como la envoltura de apariencia trilaminar demostrada por estudios con el microscopio electrónico, parece derivar de la membrana de la célula hospedera y en ella están enclavadas y proyectadas, desde su superficie, espículas de glicoproteínas de aproximadamente 8 nm de longitud. El número de glicoproteínas varía (Fig. 61.1).

CLASIFICACIÓN

Los miembros de la familia *Herpesviridae* han sido clasificados por el grupo de estudio de los Herpesvirus del Comité Internacional de Taxonomía de los virus en tres subfamilias: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* y *Gammaherpesvirinae* sobre la base de las propiedades biológicas.

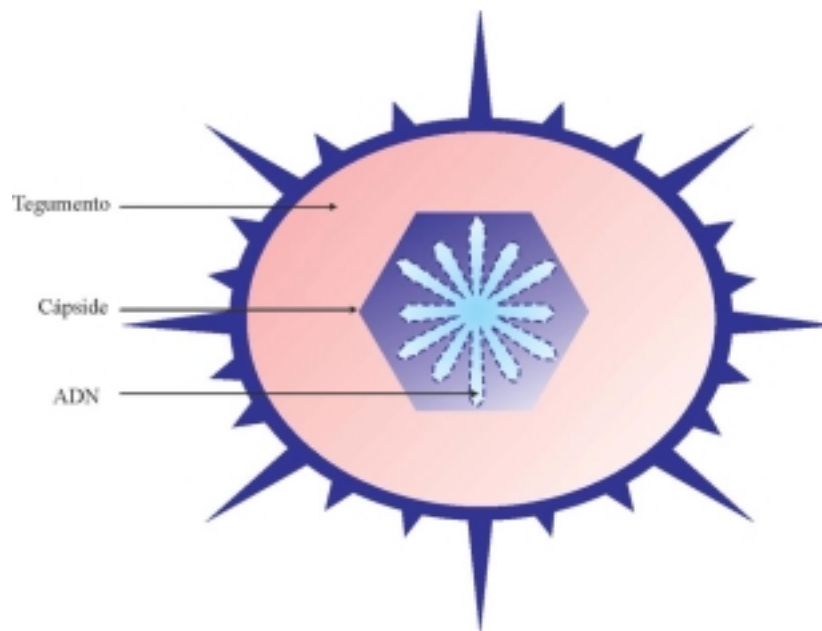


Fig. 61.1. Estructura de los herpesvirus.

Los virus pertenecientes a estas tres subfamilias se han clasificado en géneros al tomar en cuenta la homología de secuencia del ADN, la similitud en la organización de la secuencia del genoma y la relación de proteínas virales importantes, demostrables por métodos inmunológicos.

La recomendación del grupo de estudio del Comité Internacional para la Taxonomía de los Virus es que los virus herpes deben ser designados por números arábigos consecutivos y la familia (en la mayoría de los casos) o subfamilia (para primates y algunos animales) en la cual el hospedero natural del virus es clasificado (Ejemplo, herpes virus humano 6, herpesvirus cercopithecus 1) Cuadro 6.1.

SUBFAMILIA *ALPHAHERPESVIRINAE*

Los miembros de esta subfamilia son clasificados sobre la base del rango hospedero variable, el ciclo reproductivo relativamente corto, la rápida diseminación en el cultivo de células, la eficiente destrucción de las células infectadas y la capacidad para establecer una infección primaria latente, aunque no exclusivamente en los ganglios sensoriales.

Cuadro 6.1. Clasificación de los virus humanos que comprenden la familia *Herpesviridae*

Subfamilia	Género	Nombre oficial	Otra designación	% G+C	Grupo.Genómico
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Simplexvirus</i>	Herpesvirus humano 1	Herpes simple 1	68,3	E
		Herpesvirus humano 2	Herpes simple 2	69	E
	<i>Varicellovirus</i>	Herpesvirus humano 3 Varicella-Zoster	46		D
<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Citomegalovirus</i>	Herpesvirus humano 5	Citomegalovirus	57	E
	<i>Roseolovirus</i>	Herpesvirus humano 6 Herpesvirus humano 7	HHV-6 HHV-7	42	A A
<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Linfocriptovirus</i>	Herpesvirus humano 4	Virus de <i>Epstein-Barr</i>	60	C
	<i>Rhadinovirus</i>	Herpesvirus humano 8	HHV-8		

Esta subfamilia contiene el género *Simplexvirus* donde se encuentran los virus herpes simple (VHS) tipo 1 y el VHS tipo 2, y el género *Varicellovirus* que incluye el virus Varicela zoster (VVZ).

SUBFAMILIA *BETAHERPESVIRINAE*

Una característica no exclusiva de los miembros de esta subfamilia es el rango hospedero restringido. El ciclo reproductivo es largo y la infección progresa lentamente en el cultivo. Las células infectadas frecuentemente se convierten en células alargadas (citomegalia), y los cultivos portadores son establecidos sin dificultad. El virus se mantiene en forma latente en glándulas secretorias, células linforreticulares, riñones y otros tejidos. Esta subfamilia contiene el género *Cytomegalovirus* (Citomegalovirus (CMV) humano) y al género *Roseolovirus* (virus herpes humano (VHH) 6 y VHH 7)

SUBFAMILIA *GAMMAHERPESVIRINAE*

El rango hospedero experimental de los miembros de esta subfamilia está frecuentemente limitado, pero no exclusivamente, a la familia a la cual pertenecen los hospederos naturales. *In vitro*, todos los miembros se reproducen en células linfoblastoides y un grupo de ellos causan infección típica en algunas células epitelioideas y fibroblásticas. Los virus en este grupo son específicos para los linfocitos T o B. En el linfocito, la infección se manifiesta casi siempre en un estado pre-lítico o lítico, pero sin producción de progenie infecciosa. El virus establece latencia en el tejido linfóide. Esta subfamilia contiene dos géneros llamados *Lymphocryptovirus* (virus *Epstein-Barr* (VEB)) y *Rhadinovirus* (herpesvirus ateles, herpesvirus saimiri, y más recientemente el virus herpes humano 8 (VHH8).

REPLICACIÓN

Para iniciar la infección, el virión se adhiere a receptores específicos de la célula hospedera a través de las glicoproteínas virales gB y gC.

La adhesión a la superficie celular activa un proceso mediado por las proteínas de la superficie viral que causa la fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática celular, seguida de la penetración con pérdida inmediata de la envoltura.

Posteriormente la nucleocápside es transportada a los poros nucleares. En el nucleoplasma se produce la pérdida de la cápside y el ADN libre adquiere forma circular.

El ciclo normal de replicación depende de proteínas estructurales virales para la liberación del ADN y la activación de la síntesis de ácido ribonucleico (ARN). Estas también actúan para detener tempranamente la síntesis de macromoléculas en la célula hospedera durante el ciclo de replicación.

La transcripción de los genes virales en ARNm (ácido ribonucleico mensajero) ocurre en el núcleo, mientras que la síntesis de proteínas ocurre en el citoplasma. La transcripción está regulada coordinadamente de tal manera que las proteínas son sintetizadas en una cascada de forma ordenada. Se han identificado tres grupos básicos de proteínas virales, al tener en cuenta sobre todo la cinética de su síntesis: inmediatas tempranas (alpha), tempranas (beta) y tardías (gamma).

Los productos del gen beta son altamente responsables de la replicación del ADN viral e incluyen la timidina kinas viral, la ADN polimerasa y la mayoría de las proteínas de unión al ADN.

Los productos de los genes tardíos tales como la gC son expresados solamente después que ocurre la síntesis del ADN viral.

La regulación de la cascada ocurre de manera tal que los productos del gen alpha inducen la expresión del gen beta; productos del gen beta (además de una proteína alpha,

ICP4) finalizan la transcripción de los genes alpha y también inducen la expresión del gen gamma. Los productos del gen gamma regulan la expresión de los genes beta y sirven como señal para iniciar la síntesis de proteínas alpha en la próxima ronda de la replicación viral.

Las cápsides virales son ensambladas en el núcleo de la célula donde la progenie de ADN es clivada y empaquetada en el interior de las cápsides vacías. Las proteínas de unión al ADN, VP12 y VP13, están implicadas en el proceso de encapsidación del ADN. Las cápsides que contienen el ADN se unen a regiones modificadas de la membrana nuclear, posiblemente a través de la proteína viral VP22 encontrada en la superficie de cápsides completas. Estas últimas adquieren la envoltura por gemación a través de la membrana nuclear y posteriormente los viriones son secretados mediante las estructuras vesiculares a lo largo del Aparato de Golgi hasta la membrana citoplasmática donde ocurre la liberación de la progenie infecciosa mediante fusión con la membrana celular.

INFECCIONES POR EL VIRUS HERPES SIMPLE EN HUMANOS

El virus herpes simple es un virus perteneciente a la familia *Herpesviridae*, fue el primero de los herpesvirus humanos en ser descubierto y ha sido el más intensamente estudiado. Este virus es capaz de causar un amplio espectro de enfermedades en personas inmunocompetentes, que incluyen enfermedad primaria aguda y enfermedad mucocutánea recurrente en diferentes sitios como la orofaringe, los ojos, la piel, el tracto genital y el sistema nervioso central (SNC). En el huésped inmunocomprometido y los neonatos la enfermedad suele presentarse de forma más severa y muchas veces fatal, fundamentalmente, cuando se trata de una infección diseminada.

PROPIEDADES DE LOS VIRUS

Existen dos tipos de virus herpes simple: tipo 1 y tipo 2. Ambos virus se difieren en su modo de transmisión, sin embargo, la organización del genoma es similar y muestran homología sustancial en la secuencia. Los dos virus presentan reacción serológica cruzada y el análisis del genoma con enzimas de restricción proporciona la tipificación precisa de los aislamientos de estos virus.

PATOGÉNESIS DE LA INFECCIÓN POR VHS

La patogénesis de la infección humana depende sobre todo del contacto personal íntimo de un individuo susceptible (seronegativo), con alguien que se encuentra excretando el virus. El virus se tiene que poner en contacto con las superficies mucosas (ojos, boca, faringe y genitales) o la piel dañada, para que se inicie la infección. El virión se replica en el sitio de infección y aparecen las manifestaciones dérmicas de la infección primaria, cuya localización depende de la puerta de entrada del virus, aunque la infección primaria puede ser asintomática. Posteriormente, el virión intacto o la cápside es transportada por vía axonal retrógrada al ganglio regional (ganglio trigémino tras la infección orofaríngea y ganglios sacros en la infección genital) donde después de replicarse nuevamente se establece la latencia. La latencia es la propiedad más interesante de todos los herpesvirus, y consiste en la capacidad que tienen ellos para persistir en un estado de inactividad aparente por períodos de tiempo variables. La replicación viral puede reactivarse espontáneamente o por la acción de determinados estímulos: estrés físico o emocional, fiebre, exposición a la luz ultravioleta, estímulos hormonales, traumatismos, inmunosupresión, exposición a temperaturas extremas, entre otros lo que conduce a la multiplicación viral a nivel del ganglio nervioso, su viaje posterior a través del axón a las células epiteliales de la piel o membranas mucosas en el sitio original de entrada y la infección de estas células epiteliales del área inervada, para provocar así, la forma recurrente de la enfermedad que se hace evidente en sitios mucocutáneos por la aparición de vesículas en piel o úlceras en mucosas.

La presencia de anticuerpos (Acs) neutralizantes y de la inmunidad celular, impide en la mayoría de los casos que el nuevo virus se disemine, por tanto, el herpes simple recidivante permanece localizado. A veces los virus se diseminan sin límite a través de la sangre, produciendo viremia y alcanzan órganos distantes que ocasionan una enfermedad sistémica como es el caso del herpes simple neonatal y la enfermedad multiórgano del embarazo.

DATOS CLÍNICOS

El espectro clínico de la infección por VHS es muy amplio y varía desde una infección inaparente hasta la forma fulminante mortal; esto depende, entre otros factores, de si se trata de una infección primaria o recurrente, de la puerta de entrada, el serotipo y la cantidad de virus que inicia la infección. También se relaciona con factores del huésped tales como la edad, la inmunocompetencia, el estado nutricional y la presencia o ausencia de condiciones como dermatitis o quemaduras que comprometen la resistencia normal de la piel.

Las infecciones primarias por VHS con frecuencia son inaparentes, pero cuando se manifiestan suelen ser mucho más severas que las recurrencias en el mismo dermatoma. Debido a que la inmunidad a la reinfección exógena es duradera y eficaz, la mayoría de las infecciones que aparecen tras la infección primaria constituyen reactivaciones. Sin embargo, debido a que es parcial la inmunidad cruzada entre los dos tipos de virus, pueden ocurrir reinfecciones por un tipo distinto, por ejemplo, herpes genital, causado por VHS 2 en un individuo inmune para VHS 1. A esas infecciones se les denomina “enfermedad inicial” y no infección primaria y suelen ser más leves.

Cabe distinguir las siguientes formas clínicas :

1. Infecciones orofaríngeas.

- a) La infección primaria por VHS 1 afecta con mayor frecuencia a la boca y la faringe y la asintomática constituye una regla más que la excepción.

La gingivoestomatitis herpética aguda es una manifestación de la infección orofaríngea primaria por VHS 1 que afecta más frecuentemente a los niños entre 6 meses y 5 años de edad.

- b) En los adultos la infección orofaríngea primaria por VHS 1 suele presentarse como una faringoamigdalitis aguda. La enfermedad es indistinguible clínicamente de la faringoamigdalitis producida por el estreptococo Beta hemolítico del grupo A y puede también ser confundida con la mononucleosis infecciosa producida por el VEB.
- c) El herpes labial es la manifestación más común de infección recurrente por VHS. Generalmente las lesiones reaparecen en el mismo sitio y determinados factores pueden provocar esas recurrencias como la exposición a la luz solar, la fiebre, el estrés, entre otros.

2. Infecciones oculares.

- a) La infección primaria de los ojos ocurre más comúnmente en los niños y exceptuando a los recién nacidos es casi siempre causada por el VHS 1. La mayoría de las infecciones son asintomáticas y no reconocidas. Cuando es sintomática, usualmente se manifiesta como una conjuntivitis folicular unilateral que puede estar acompañada por blefaritis y linfadenopatía preauricular. Algunas infecciones primarias comprometen la córnea produciéndose una queratoconjuntivitis herpética aguda.

- b) Las reactivaciones en su mayoría suelen ser asintomáticas, aunque algunas resultan ser sintomáticas. Las recurrencias a menudo se evidencian como queratitis, blefaritis o queratoconjuntivitis .

- c) En los recién nacidos las infecciones de los ojos por VHS son causadas por el VHS 2 más frecuentemente que por VHS 1, reafirmando así el origen genital materno de la mayoría de ellas. La queratoconjuntivitis puede progresar por extensión directa a una coriorretinitis, pero el compromiso de la retina es usualmente una consecuencia de la viremia, la cual ocurre generalmente en ausencia de compromiso corneal en neonatos, en niños inmunocomprometidos y adultos con infección diseminada por VHS. El VHS por extensión directa del cerebro en pacientes con encefalitis, puede alcanzar la retina.

3. Infecciones de la piel.

La piel intacta es resistente al VHS, por tanto, este tipo de infección es poco común en adultos normales. Cuando se presenta, la infección, generalmente, está asociada con el trauma cutáneo. Dichas infecciones predominan en la población infantil prepuberal y los adultos jóvenes. Como regla, las lesiones situadas por encima de la cintura son causadas por el VHS 1 y las que se localizan por debajo de esta se deben al VHS 2.

- a) Las infecciones cutáneas primarias pueden ser vistas en profesionales en contacto con secreciones orales o áreas infectadas, como enfermeras, médicos y odontólogos que están expuestos a la infección herpética de los dedos, conocida como panadizo herpético.
- b) Las infecciones cutáneas primarias son también vistas en atletas, luchadores o pugilistas, donde presumiblemente la piel traumatizada es infectada por el contacto con una lesión cutánea del adversario o la saliva que contiene el virus (herpes de gladiadores).
- c) El eczema herpético es una forma de erupción variceliforme de Kaposi. Se presenta en su forma característica en pacientes con dermatitis atópica, enfermedad de Darier, pénfigo, síndrome de Wiskott-Aldrich, quemaduras y raramente en pacientes con otras enfermedades propias de la piel.

Las recurrencias en cualquiera de los casos son comunes.

4. Infección genital.

La infección genital puede ser causada por el VHS 1 y el VHS 2, aunque en el 90 y 95 % de los casos es causada por el VHS 2. Su prevalencia es mucho más alta en la mujer y cuando ocurre en la gestante constituye un riesgo potencial para el recién nacido.

La cervicitis herpética es la localización más frecuente en la mujer donde se presentan ulceraciones profundas e hiperplasia. En menos del 25 % de los casos existen lesiones vulvares asociadas que pueden extenderse a regiones vecinas. La infección vulvar primaria es más frecuente en adolescentes y en la mujer joven. Las lesiones en la mucosa vaginal son raras.

En los varones, la infección herpética genital es menos aparente. En general, se trata de un grupo de vesículas aisladas o úlceras superficiales en el prepucio, el glande y, con menor frecuencia, en el escroto y las áreas adyacentes del periné. La uretritis es rara y puede presentarse en forma aislada o asociada a otras infecciones venéreas.

Las prácticas heterosexuales y homosexuales determinan que VHS se localice frecuentemente en el área anorrectal.

En general, las recurrencias de las infecciones herpéticas genitales son comunes y tienden a ser leves. La sintomatología es menos manifiesta y algunas son asintomáticas.

5. Infecciones del sistema nervioso central.

Las formas clínicas más frecuentes son las meningitis y la encefalitis. En ocasiones se han descrito cuadros de mielitis transversa y polirradiculitis como el síndrome de Guillain-Barré.

- a) La meningitis herpética es causa esporádica de meningitis aséptica, responsable del 1 al 5 % de todas las meningitis víricas. De forma característica se presenta en adultos jóvenes, por lo general, asociada a un herpes genital primario y es causada por el VHS 2 que atestigua su punto de partida genital. Su curso clínico y su evolución son benignos e indistinguibles de las meningitis causadas por otros virus. Las meningitis por VHS también han sido observadas en niños, en los cuales el VHS 1 se ha aislado del líquido cefalorraquídeo (LCR).
- b) La encefalitis herpética es la forma más grave de infección herpética del SNC, siendo a menudo letal. La mayoría de los casos se deben a VHS 1 que constituye la causa más frecuente de encefalitis esporádica viral en países de la zona templada. Datos serológicos indican que la encefalitis por herpes simple se presenta como infección primaria en cerca del 50 % de los pacientes y como una infección recurrente en el resto, pero no existen diferencias entre estas dos en cuanto a la forma de presentación, el curso clínico y la recuperación. El hecho de ser una de las pocas infecciones víricas susceptibles de tratamiento específico determina que sea de gran importancia establecer un diagnóstico precoz. Tiene una mortalidad de más del 70 % en ausencia de tratamiento específico.

6. Infección herpética neonatal.

El VHS 2 es el agente etiológico en la mayoría de los casos, aunque el VHS 1 suele ser responsable hasta en el 20% de los casos.

La infección del recién nacido puede ser adquirida en tres momentos : intraútero, intraparto o postnatalmente. La vía más común es intraparto y se produce al ponerse el feto en contacto con las secreciones genitales maternas infectadas. La infección intraútero puede ocurrir como consecuencia de una infección ascendente o por transmisión transplacentaria. La postnatal está relacionada con el personal del hospital que pueden ser reservorio del virus. La transmisión postnatal de la madre al hijo también ha sido documentada.

La infección herpética neonatal es casi siempre sintomática y, frecuentemente, letal. Aunque existen casos reportados de infección asintomática, estos no son los más comunes. La afectación del feto por vía transplacentaria durante el embarazo, se puede producir si la madre presenta viremia secundariamente a una lesión herpética antes de las 20 semanas de gestación. Las manifestaciones más frecuentes son microcefalia, microftalmía, calcificaciones cerebrales, afectación retineana y retraso mental. No obstante, no existen estudios prospectivos extensos que indiquen la probabilidad de aborto, muerte fetal o alteraciones congénitas .

Los niños infectados intraparto o postnatalmente con el VHS pueden presentar: enfermedad localizada en la piel, ojos y boca, encefalitis con o sin afección cutánea localizada y enfermedad generalizada que afecta a numerosos órganos, incluyendo el SNC, normalmente fatal, con graves secuelas neurológicas en los sobrevivientes.

7. Infección en otros sitios.

La viremia transitoria es común durante la infección primaria por VHS en personas inmunocompetentes, pero los mecanismos de defensa del hospedero específicos e inespecíficos, generalmente limitan la replicación del virus y la diseminación hematogena del foco infeccioso en la piel y órganos internos, permaneciendo subclínica. Sin embargo, aunque esto es mucho más común en pacientes inmunocomprometidos, la enfermedad clínicamente manifiesta debida a diseminación hematogena o extensión directa de la infección por VHS también ocurre en huéspedes inmunocompetentes.

a) Infección diseminada: la infección primaria orofaríngea en niños y genital en adultos aparentemente inmunocompetentes, puede complicarse a veces por una viremia clínicamente importante con diseminación cutánea o visceral. Esto puede ocurrir durante o después de infecciones cutáneas asintomáticas, en ausencia de síntomas y signos de enfermedad en la puerta de entrada. En la mayoría de los casos, la diseminación está confinada a la piel la cual produce una enfermedad indistinguible de la varicela. La diseminación visceral puede o no acompañarse de lesiones vesiculares en la piel. Están involucrados múltiples órganos, pero la hepatitis fulminante por VHS es, en general, clínicamente predominante y se acompaña de leucopenia, trombocitopenia y coagulación intravascular diseminada. Este síndrome, el cual es fatal en la mayoría de los casos, ocurre con gran frecuencia en mujeres embarazadas, usualmente durante el tercer trimestre.

La infección diseminada por VHS 1 y VHS 2 en niños y adultos aparentemente normales también se asocia con la esofagitis herpética, necrosis adrenal, neumonitis intersticial, cistitis, artritis monoarticular, meningitis y muy raramente con encefalitis.

8. Infección en el huésped inmunocomprometido.

Los pacientes en los cuales las defensas inmunológicas están comprometidas como consecuencia de una inmunodeficiencia congénita, malnutrición, enfermedades inmunosupresoras (procesos malignos hematológicos y linforreticulares y pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia humana (SIDA)), inmunosupresión iatrogénica (trasplantados), ciertas enfermedades de la piel y quemaduras graves, tienen un riesgo mayor de infección severa y fatal por VHS.

Las formas clínicas mejor caracterizadas son las siguientes :

- a) Eczema herpético variceliforme de Kaposi.
- b) Lesiones ulceradas mucocutáneas extensas y de evolución prolongada (herpes fagedeno) de localización nasobucal, rectal y genital.
- c) Traqueobronquitis y neumonitis.
- d) Esofagitis herpética.
- e) Infección herpética generalizada en la que con mayor frecuencia resultan afectados el hígado, los pulmones, el tracto gastrointestinal, las suprarrenales, el SNC y la piel. La mortalidad se aproxima al 100 % de los casos.

9. Relación con otras enfermedades.

Se ha implicado a las infecciones por VHS como cofactores involucrados en la patogenia de diversos trastornos neurológicos, como la parálisis facial idiopática, la esclerosis múltiple, el síndrome de dolor atípico, la mielitis ascendente, neuralgia del trigémino y epilepsia del lóbulo temporal. También se ha relacionado con el eritema multiforme. Existen datos contradictorios sobre la participación del VHS 2 en el cáncer cervical, actualmente se cree que es un cofactor más en su complicada patogenia.

INMUNIDAD

La historia natural de la infección está influenciada por la respuesta inmune específica e inespecífica. Los Acs IgM aparecen transitoriamente y son seguidos por IgG e IgA, los cuales tienden a persistir en el tiempo. Los Acs neutralizantes y los dependientes de la actividad celular citotóxica aparecen de 2 a 6 semanas después de iniciada la infección y persisten de por vida. Existe una relación directa entre la intensidad de la respuesta de Acs y la severidad y recurrencia de las infecciones. Los Acs no evitan las reinfecciones ni las reactivaciones del virus latente, pero pueden modificar la enfermedad.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El aislamiento viral sigue siendo el estudio indicado para el diagnóstico de certeza de las infecciones por VHS. Sin embargo, otros métodos como la detección de antígeno viral en la propia muestra, o en cultivos, la observación de las partículas víricas mediante inmunomicroscopia electrónica y actualmente la detección del ADN viral mediante amplificación por RCP, están siendo cada vez más utilizados debido a su rapidez, sencillez y elevada sensibilidad.

1. Aislamiento viral.

Para el aislamiento del virus, las muestras más adecuadas son el líquido vesicular de las lesiones mucocutáneas o en su defecto el exudado (raspando fuertemente para recoger células epiteliales). Otros tejidos y fluidos corporales pueden ser cultivados también en dependencia del cuadro clínico: sangre, LCR, orina, heces, saliva, semen, exudados faríngeos, uretrales, rectales y secreciones vaginales y cervicales.

En la neumonía del inmunodeprimido la muestra ideal es el lavado broncoalveolar, en la esofagitis y la encefalitis, la biopsia y en la queratitis el raspado corneal. En los procesos clínicos que van acompañados de viremia en ausencia de lesiones cutáneas el virus puede aislarse a partir de leucocitos de sangre periférica.

Las muestras deben ser tomadas durante las primeras 24 a 48 h. Todas deben ser transportadas al laboratorio en frío, para esto se utiliza un medio de transporte adecuado para mantener la viabilidad del virus y deben ser procesadas inmediatamente. Si el cultivo no va a ser inoculado en las primeras 24 h, las muestras deben ser conservadas a -70 °C.

Muchas líneas celulares son susceptibles a la infección por el VHS. Están disponibles para el aislamiento del VHS líneas diploides de fibroblastos humanos (MRC5, WI 38). Líneas celulares como las de riñón de hámster recién nacido (BHK 21), riñón de mono verde africano (Vero), fibroblastos de ratón (células L), células HeLa y células Hep2 son también permisivas para este virus.

Estudios comparativos han demostrado que las células de rhabdomyosarcoma, cultivo primario de riñón de conejo, cultivo primario de fibroblastos embrionarios de curiel, así como el cultivo diploide de pulmón embrionario humano son más sensibles y conducen a un diagnóstico más rápido. El efecto citopático (ECP) típico aparece de las 24 a las 72 h, pero esto depende de la carga viral. La mayoría de los aislamientos (95 %) presentan ECP antes de 5 días. Este consiste en redondeamiento y agrandamiento de las células seguido de la fusión celular, con la formación de células gigantes multinucleadas con inclusiones intranucleares (células de Tzanck).

El aislamiento viral debe ser confirmado con métodos para la detección de antígenos de VHS o detección del ADN, pudiendo ser tipificado como VHS 1 o VHS 2. Dentro de las

técnicas utilizadas para esto están la neutralización viral, la inmunofluorescencia con el uso de anticuerpos monoclonales específicos de tipo, la hibridación de ácidos nucleicos y el análisis del ADN viral con enzimas de restricción.

Se pueden aplicar técnicas de detección rápida de antígeno o ácido nucleico en el cultivo celular, entre 24 a 48 h después de la inoculación de la muestra, lo que permite detectar e identificar la replicación viral antes de la aparición del ECP característico.

El *shell vial* aporta mayor rapidez diagnóstica que el cultivo convencional puesto que facilita la penetración vírica en las células mediante centrifugación y no es necesario esperar la aparición del ECP para detectar su replicación.

Otros sistemas biológicos empleados para el aislamiento viral son los animales de laboratorio (ratones, hámsters, monos, conejos) y el cultivo en huevos embrionados.

2. Examen directo de la muestra.

Muchas decisiones terapéuticas requieren información diagnóstica en minutos u horas y varios métodos que permiten el examen directo de la muestra lo pueden facilitar. Uno de ellos es la apariencia histológica de las lesiones causadas por el VHS. Células gigantes multinucleadas y células epiteliales las que contienen cuerpos de inclusión eosinófilos intranucleares distinguen las lesiones de VHS de las producidas por otros patógenos. Estos cambios pueden ser demostrados mediante la tinción con hematoxilina-eosina, Giemsa y/o Papanicolau, aunque estos métodos no son específicos.

La microscopia electrónica permite observar viriones con morfología típica de la familia Herpesviridae en el material procedente de las lesiones, pero no permite diferenciar entre sus miembros. La inmunomicroscopia electrónica mediante el uso de anticuerpos policlonales o monoclonales también facilita detectar la presencia del VHS.

Existen sistemas comerciales que utilizan anticuerpos monoclonales para detectar antígenos virales, directamente, sobre la muestra clínica.

3. Diagnóstico serológico.

Para el diagnóstico serológico la muestra adecuada suelen ser los sueros pares. El primer suero se colecta lo más cercano al inicio de los síntomas, el segundo, de 2 a 3 semanas después. El transporte deberá realizarse a 4 °C, y conservarse a -20 °C hasta su uso. Para el diagnóstico de las infecciones primarias, ya sea por demostración de seroconversión o por detección de anticuerpos de tipo IgM en individuos sin anticuerpos preexistentes, los métodos serológicos suelen ser útiles, pero sobre todo para estudios epidemiológicos de prevalencia. Sin embargo, no es útil para diagnosticar infecciones recurrentes, puesto que no suelen ir asociadas a cambios detectables en el título de anticuerpos ni a la producción de IgM. Puede usarse en el diagnóstico de las infecciones del SNC, la demostración de un incremento del título de anticuerpos del LCR con respecto al sérico, ya que indica la producción intratecal de los mismos.

Se han desarrollado muchos métodos serológicos como la fijación del complemento, neutralización, inmunofluorescencia, inmunoperoxidasa, ensayos inmunoenzimáticos, radioinmunoanálisis, hemaglutinación pasiva, ensayos de toxicidad mediado por células dependientes de anticuerpos. Existen ensayos serológicos para tipificar anticuerpos dirigidos contra el VHS usando antígenos específicos de tipo. Con este objetivo se han desarrollado ensayos inmunoenzimáticos para detectar anticuerpos dirigidos contra glicoproteínas tipo específicas del VHS1 (gG1 ó gC) o del VHS 2 (gG2). Dentro de estos ensayos se encuentra el *Western Blot* que constituye la prueba de oro para la tipificación exacta de los anticuerpos contra el VHS.

4. Diagnóstico mediante biología molecular.

Con los avances de la biología molecular se han logrado también avances en el diagnóstico de la infección por VHS. La hibridación de ácidos nucleicos usando sondas de ADN marcadas radiactivamente o el análisis del ADN amplificado mediante reacción en cadena de la polimerasa (RCP) constituyen estudios rápidos y eficaces. Esta última constituye el método más sensible para la detección de genoma del VHS en el LCR, útil en el diagnóstico de la encefalitis por el VHS. El análisis del genoma del VHS con enzimas de restricción proporciona la tipificación precisa de los aislamientos de este virus.

EPIDEMIOLOGÍA

Los virus herpes simple tienen distribución mundial. A pesar de la susceptibilidad a la infección experimental de una variedad de animales, los humanos constituyen el único reservorio natural y no existen vectores involucrados en la transmisión. La capacidad de estos virus para establecer infección latente con reactivación periódica durante toda la vida y la eliminación de virus asegura la supervivencia de estos en poblaciones pequeñas y aisladas para mantener su circulación continua de virus. El VHS es mundialmente endémico en todas las sociedades humanas, desde grandes poblaciones urbanas a tribus nativas aisladas y geográficamente remotas.

La epidemiología de los virus Herpes simple tipo 1 y 2 difiere.

Las variaciones geográficas en los patrones de enfermedad causados por el VHS reflejan diferencias en las condiciones de vida de la población hospedera y en la edad de adquisición de la infección y no variaciones en el virus.

El modo de transmisión del VHS es, preferentemente, el contacto personal estrecho, en el cual media la transferencia directa de virus por secreciones infectadas o por una superficie mucocutánea infectada, a las membranas mucosas o la piel del receptor. Debido a que el estrato córneo intacto es resistente a la infección por VHS, la transmisión a sitios cutáneos, generalmente, requiere alguna rotura de esta barrera, ya sea por trauma o por enfermedad. El VHS es lábil. A pesar de que evidencias experimentales apunten a que este puede sobrevivir por horas sobre una variedad de superficies contaminadas, la transmisión a través de objetos inanimados tales como asientos de madera, piscinas o bañaderas, no está documentada y no existen evidencias de transmisión natural a través de aerosoles.

Los patrones epidemiológicos diferentes de las infecciones por VHS 1 y VHS 2 reflejan diferencias en el modo de transmisión. El VHS 1 se transmite principalmente por contacto con lesiones o secreciones orales infectadas y la incidencia y prevalencia de la infección están influenciadas por factores que afectan el grado de exposición, tales como el hacinamiento, la higiene deficiente y la edad. El grado de adquisición de la infección por VHS 1 está inversamente relacionado con el nivel socioeconómico contra VHS1. Mientras la infección primaria por VHS 1 está confinada a la infancia temprana en países desarrollados y de manera similar en poblaciones urbanas pobres en los EUA, la mayoría de los niños de medio y alto ingreso en el mundo occidental escapan a las infecciones por VHS 1 durante la infancia y se produce un segundo pico de infecciones en los adolescentes y adultos jóvenes.

El VHS 2 es la causa predominante de herpes genital, es transmitido sexualmente a través del contacto con secreciones genitales infectadas o superficies mucosas. La infección por VHS 2 es rara antes de la pubertad y su adquisición está relacionada con la actividad sexual. La tasa más alta de infección ocurre entre los 15 y 35 años de edad (más del 80 % de las infecciones primarias por VHS 2 se presentan en ese grupo etareo). Dentro de los factores de riesgo para la infección por VHS 2 están: la promiscuidad sexual, el inicio de relaciones sexuales a edades tempranas, historia anterior de otras enfermedades de transmisión sexual (ETS), familias de bajo ingreso, años de actividad sexual, incremento de esta en los adolescentes, no usar barreras contraceptivas.

La mayoría de las infecciones primarias por VHS 2 son adquiridas de una pareja sexual que disemina el virus en ausencia de síntomas o signos reconocidos de enfermedad. Todas las personas seropositivas tienen infección latente y experimentarán reactivación al menos ocasionalmente.

El período de incubación suele ser de 7 a 12 días. Los estudios epidemiológicos se han complicado por 2 características del VHS: la prevalencia de infecciones ocultas y la naturaleza de la respuesta inmune. Se ha reportado que la secreción de virus en la saliva puede extenderse hasta 7 semanas después de la recuperación de una gingivoestomatitis. Los pacientes con lesiones genitales primarias son infectivos entre los 7 y los 12 días y con enfermedad recurrente durante 4 días y hasta una semana.

La infección neonatal por VHS, 2/3 de las cuales son causadas por el VHS 2, son usualmente adquiridas durante el paso del recién nacido a través del canal del parto de una madre infectada con herpes genital.

La infección también puede ser adquirida intraútero o postnatalmente, de la madre o de otro adulto afectado por VHS no genital, o por transmisión nosocomial en las enfermerías. El riesgo de enfermar es mucho mayor para niños nacidos de madres con infección primaria que con infección genital recurrente.

Ciertas infecciones por VHS son un riesgo particular para grupos especiales. El panadizo herpético causado por el VHS 1 es un riesgo ocupacional para médicos, dentistas y personal de enfermería, por estar sus manos expuestas a secreciones orofaríngeas infectadas. Las infecciones de la piel por VHS 1 (herpes gladiatorum) son comunes en escuelas de luchadores. Han ocurrido brotes nosocomiales de infección por VHS 1 en pacientes y personal paramédico, particularmente en enfermeras neonatólogas o de unidades de cuidados intensivos, así como en dentistas. Las infecciones anales y perianales por VHS 2 son comunes entre homosexuales masculinos sexualmente activos. Prácticas heterosexuales también han hecho posible el aumento de la incidencia del herpes anogenital.

PREVENCIÓN Y CONTROL

1. Es importante la educación para la salud y la higiene personal dirigida a minimizar la transferencia de virus.
2. Evitar la contaminación de la piel de pacientes eczematosos con material infeccioso.
3. El personal médico y paramédico debe usar guantes cuando se va a poner en contacto directo con lesiones potencialmente infecciosas.
4. Cuando ocurre una infección primaria genital por VHS al finalizar el embarazo, se aconseja realizar cesárea antes de la ruptura de membrana debido al alto riesgo de infección neonatal fatal. El uso de fórceps o espátula está contraindicado. El riesgo después de una infección recurrente es mucho más bajo y la práctica de la cesárea es recomendable sólo cuando existen lesiones activas presentes en el momento del parto.
5. El uso de condones durante las prácticas sexuales puede disminuir el riesgo de infección.
6. No existen agentes antivirales que hayan demostrado ser efectivos en la profilaxis de la infección primaria, aunque el aciclovir puede ser usado profilácticamente para reducir la incidencia de las recurrencias y de la infección por herpes en pacientes inmunodeficientes.

PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN GENITAL Y NEONATAL

La transmisión horizontal de la infección genital por VHS 2 es prevenible: con el diagnóstico clínico y de laboratorio se pueden identificar infecciones subclínicas, que pueden transmitir el virus a la pareja. Las pruebas serológicas, sin embargo, no diferencian la infección oral y genital por VHS 1. Los ensayos serológicos corrientes ayudan a determinar si un individuo es seronegativo al VHS y por tanto, el riesgo de adquirir infección genital u oral por este. Las modificaciones en la conducta sexual incluyendo la abstinencia o el uso de anticonceptivos de barrera, son los métodos disponibles para evitar la diseminación del VHS genital.

Para prevenir la transmisión a los neonatos se requiere el reconocimiento de la infección genital por VHS en la mujer embarazada. Las mujeres con historia anterior de herpes genital deben ser examinadas cuidadosamente en el momento del parto, la presencia de lesiones genitales en ese instante determina la realización de la cesárea. Todas las madres con una historia de herpes genital deben tener cultivos de rutina de cérvix, vulva y secreciones vaginales. Si los cultivos son positivos, los recién nacidos deben seguirse muy de cerca para detectar signos de infección y aplicar terapia antiviral.

El riesgo de infección neonatal es más alto cuando la madre adquiere la infección al término del embarazo. Están bajo estudio la inmunoprofilaxis pasiva o la reconstitución inmune del neonato recién nacido de una madre con infección genital primaria al término del embarazo y la terapia supresora al nacer, con aciclovir.

VACUNA DE VHS

La vacunación continúa siendo el método ideal para prevenir la infección viral, sin embargo, la prevención de la infección por VHS presenta como único problema las infecciones recurrentes que se producen en presencia de inmunidad humoral. No obstante, estudios en modelos animales, han demostrado que vacunas de virus muertos y vacunas de subunidades de glicoproteínas confieren protección.

Los esfuerzos más recientes con vistas al hallazgo de una vacuna contra el VHS han estado dirigidos a la aplicación de técnicas moleculares para obtener y preparar antígenos. Dos de las más prometedoras vacunas contra VHS, han sobrevivido a evaluaciones preclínicas extensas y escrutinios científicos. La primera de ellas se basa en la producción de cantidades suficientes de glicoproteínas recombinantes B o D de VHS 2 por organismos microbianos, a utilizarse como vacuna de subunidades. La segunda se obtiene por ingeniería genética y consiste en VHS recombinante vivo atenuado, que combina el genoma del VHS 1 y del VHS 2 con delección de genes seleccionados cuidadosamente, para eliminar secuencias neurovirulentas.

Aunque el logro de estas dos vacunas específicas es promisorio, muchos esfuerzos previos permitieron el desarrollo de otras vacunas que incluso, han sido probadas en humanos: vacuna de virus salvaje, vacuna de virus muerto o inactivado, vacuna de subunidades y vacuna de virus vivo.

TRATAMIENTO

Los análogos de nucleósidos y sus derivados fosforilados inhiben la replicación viral del VHS. Algunos de estos fármacos, como la idoxiuridina, trifluridina y la vidarabina, se usan de forma tópica en el tratamiento de la queratitis herpética. La vidarabina ha sido utilizada por vía sistémica y ha demostrado su eficacia en la encefalitis herpética y en el herpes neonatal. El desarrollo del aciclovir representó un enorme avance en el tratamiento de las infecciones herpéticas. El penciclovir, otro análogo de nucleósidos, es también activado por la timidina kinasa del VHS y su forma oral, el famciclovir se encuentra en ensayos clínicos.

El aciclovir es efectivo para disminuir el tiempo de excreción viral y los síntomas locales y sistémicos en los herpes genital y oral. Por vía endovenosa constituye el tratamiento de elección para la encefalitis herpética y reduce el índice de mortalidad en el herpes neonatal. El aciclovir también puede utilizarse para suprimir el herpes genital recurrente, pero su eficacia en la eliminación de la excreción viral en pacientes asintomáticos está menos clara. También ha sido útil para el tratamiento y supresión de las lesiones mucocutáneas recurrentes, así como en las diseminaciones en el huésped inmunocomprometido. Se han detectado mutantes del VHS resistentes al aciclovir y estas pueden asociarse con una enfermedad progresiva, lo que constituirá un problema mayor en el futuro.

El foscarnet es una droga antiviral alternativa y se recomienda para casos donde falla el tratamiento con aciclovir. También se han descrito cepas de virus resistentes a este antiviral.

VIRUS VARICELA ZOSTER

La primera sugerencia de que tanto el herpes zoster como la varicela eran producidos por el mismo agente infeccioso fue hecha por Von Bókay, en 1888, quién observó la aparición de varicela en niños que habían estado expuestos a una persona que tenía un herpes zoster. Actualmente se conoce que este virus es el agente etiológico de ambas enfermedades. La varicela es una enfermedad que ocurre en la niñez, es altamente contagiosa y se caracteriza por erupción vesicular generalizada en piel y mucosas, aunque puede presentarse una forma grave de la enfermedad en adultos e inmunodeficientes.

El zoster es una enfermedad esporádica que se presenta, por lo general, durante la vejez en individuos que hayan tenido una infección anterior, sintomática o no por el virus.

PROPIEDADES DEL VIRUS

Los viriones son morfológicamente idénticos a los de herpes simple. Tienen un diámetro de 180 a 200 nm y el genoma está constituido por ADN de doble tira, lineal el cual contiene un segmento único largo, flanqueado por secuencias repetidas internas y una secuencia única corta flanqueada también por secuencias repetidas. Posee una talla de 125 kpb. Es el genoma menos caracterizado de todos los herpesvirus. La nucleocápside tiene un diámetro de 100 nm, está compuesta de 162 capsómeros distribuidos con simetría icosaédrica. Se han detectado aproximadamente 30 especies diferentes de proteínas y al menos 5 son glicosiladas.

PATOGÉNESIS Y PATOLOGÍA

El virus penetra a través de la mucosa del tracto respiratorio superior, orofaringe y alternativamente a través de la conjuntiva.

La replicación comienza en el sitio de inoculación, posteriormente el virus se disemina por vía sanguínea (primera viremia) y linfática. El virus alcanza el sistema reticuloendotelial donde ocurren múltiples ciclos de replicación durante el período de incubación. La viremia primaria es limitada por los mecanismos de defensa específicos e inespecíficos del huésped, pero en la mayoría de los casos no logran limitar la infección y se produce una segunda viremia más extensa que dura aproximadamente 3 días. Esta viremia está asociada con signos prodrómicos, los cuales son seguidos por lesiones cutáneas y mucosas. Las lesiones cutáneas de varicela empiezan con la infección de las células de los capilares endoteliales y diseminación subsiguiente a las células epiteliales de la epidermis y de las mucosas. Posteriormente, el virus se mantiene latente en los ganglios sensoriales a nivel de las células satélites y durante este período no ocurre replicación ni daño celular y solo se expresan algunos genes. No se conoce bien cuál es el mecanismo de reactivación del virus; se han planteado diferentes factores como son los estados de inmunodepresión, la cirugía, traumas a nivel del cordón espinal o estructuras adyacentes, o radioterapia. En este momento ocurre una multiplicación extensa del virus en el ganglio produciéndose necrosis e inflamación, con diseminación del virus a través del nervio sensitivo hasta la piel donde se producen las lesiones características del herpes zoster que son idénticas a las de la varicela, pero se localizan siguiendo el trayecto de un nervio.

DATOS CLÍNICOS

Varicela. Es una enfermedad que se presenta, generalmente, en la niñez. Después de un período de incubación de alrededor de 15 días comienzan los pródromos que incluyen un rash acompañado de fiebre y malestar general, pero en la mayoría de los niños pequeños están ausentes o son moderados.

En niños mayores y adultos los pródromos son más frecuentes y en ocasiones aparecen antes del rash. Además de fiebre con escalofríos, malestar general, cefalea, lumbalgia y anorexia puede aparecer odinofagia y tos no productiva.

El rash es lo más típico de esta enfermedad y está caracterizado por una rápida progresión de las lesiones que pasan por los estadios de mácula a pápula, vesícula, pústula y costra. Estas últimas desaparecen en 1 ó 3 semanas. Las lesiones se localizan, fundamentalmente, en cuero cabelludo, cuello y tronco para luego diseminarse a las extremidades y también aparecen en las superficies mucosas. Son pruriginosas y no respetan la palma de las manos ni la planta de los pies. Se observan lesiones típicas en la orofaringe, conjuntiva y vagina, aunque son más comunes en regiones expuestas. Las lesiones de la piel pueden observarse en todos los estadios y a esto se le conoce como el signo de la noche estrellada.

El curso de la infección es, generalmente, benigno. Se reporta un 5 % de casos con infección inaparente y algunos pacientes presentan una forma severa de la enfermedad caracterizada por neumonía y diseminación visceral. Esta forma es más frecuente en adultos e inmunocomprometidos.

Varicela neonatal. La infección por este virus puede ser transmitida al feto intraútero o tempranamente después del nacimiento. El riesgo es mayor cuando la madre adquiere la infección 5 días antes del parto y 2 días después. Como resultado de esto el feto nace normal o con enfermedad diseminada más neumonía y esto es debido a inmadurez inmunológica que impide el control de la infección. La mortalidad es de un 30 %.

La adquisición de varicela en una gestante durante el primer trimestre del embarazo ha sido raramente asociado a malformaciones congénitas: hipoplasia de un miembro u otra parte del cuerpo, cicatrización dérmica con distribución zosteriforme, atraso cortical con epilepsia, déficit neurológico, catarata, coriorretinitis.

Herpes zoster. El herpes zoster es el resultado de la reactivación de una infección latente por el virus varicela-zoster. Diversos factores que disminuyen los mecanismos de resistencia del huésped (inmunosupresión, tumores, traumas) permiten que el virus se reactive y se multiplique. La reactivación es esporádica y no se ha demostrado afectación fetal en embarazadas con herpes zoster.

El rash va precedido de dolor y parestesias en el dermatoma afectado que comienzan varios días antes de la aparición de la erupción y puede ser desde un dolor moderado hasta severo. Otros síntomas son fiebre, malestar general y cefalea que es común en los niños.

La erupción es unilateral, no atraviesa la línea media del cuerpo y está limitada a la inervación cutánea de un solo ganglio sensorial. Rara vez resultan involucrados dermatomas adyacentes. Las lesiones son variceliformes y en ocasiones forman placas. Las áreas inervadas por el trigémino (especialmente, la rama oftálmica) y el ganglio torácico son las más, frecuentemente, involucradas. Las lesiones en las extremidades son raras. La duración y gravedad de la erupción cutánea son proporcionales a la edad del paciente. En el 15 % de los pacientes en los que se involucra la rama oftálmica del trigémino se presenta una conjuntivitis homolateral y ocasionalmente queratitis y escleritis. La complicación más común es la neuralgia postherpética que se presenta en el 50 % de los pacientes mayores de 60 años de edad y, por lo general, resuelve espontáneamente. Otras complicaciones son: la anestesia del dermatoma involucrado, la superinfección bacteriana de las lesiones, opacidad corneal, meningitis, encefalitis, parálisis facial, neumonía, entre otras.

RESPUESTA INMUNE

La infección por el VVZ induce la producción de Acs específicos de tipo IgG, IgM e IgA que son demostrables los 5 primeros días del comienzo de la enfermedad. Los pacientes también desarrollan respuesta inmune mediada por células que parece tener más importancia en las defensas del huésped frente al virus que la respuesta humoral. El pico en la respuesta de Acs ocurre de 4 a 8 semanas y persisten por 6 meses. Los Acs IgG se han detectado en el 100 % de los individuos durante años después de la varicela.

La inmunidad celular puede ser detectada por estimulación de linfocitos con antígenos de varicela, mediante pruebas intradérmicas y por lisis específica de las células del sistema de histocompatibilidad por células T citotóxicas estimuladas con antígeno de varicela. Las células asesinas naturales y la toxicidad celular dependiente de Acs a VVZ ha sido reportada. El pico en la actividad de la inmunidad mediada por células ocurre de 1 a 2 semanas del comienzo de la varicela y decrece, gradualmente, hasta niveles muy bajos. La presencia de interferón en las vesículas ha sido demostrada y puede contribuir a la recuperación.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico clínico de esta enfermedad es el más importante, por lo que el diagnóstico de laboratorio solo se utiliza en casos que ofrezcan dudas o cuando aparecen complicaciones.

En frotis tomados de las vesículas y teñidos con Giemsa, Papanicolau, Hematoxilina y eosina puede demostrarse la presencia de células gigantes multinucleadas con inclusiones intranucleares. La microscopía electrónica, la inmunofluorescencia, la difusión en gel, la contraelectroforesis y las técnicas de biología molecular (RCP, hibridación) mediante la detección de antígenos directamente en la muestra permiten un diagnóstico rápido.

El aislamiento del virus continúa siendo la prueba de oro.

Las muestras que se utilizan son el líquido de las vesículas y en menor medida exudados faríngeos que deben ser tomados durante los tres primeros días de la enfermedad. Las muestras tomadas de costras y pústulas no son útiles. El virus es extremadamente lábil por lo que las muestras deben ser transportadas en frío y si no se produce la inoculación inmediata deben ser almacenadas a -70°C . La inoculación se lleva a cabo en cultivo celular de origen humano específicamente fibroblastos de pulmón embrionario humano. El efecto citopático aparece de 2 a 14 días después de la inoculación y se caracteriza por la aparición de pequeños focos de células redondeadas y refractarias. El aislamiento puede identificarse mediante inmunofluorescencia empleando Acs monoclonales.

Mediante diferentes pruebas serológicas es posible detectar la presencia de Acs específicos contra el virus. Entre las más empleadas se encuentran la fijación del complemento, la neutralización, los ELISA y la inmunofluorescencia indirecta.

La demostración de la inmunidad celular es importante para conocer el estado inmunológico del paciente, pero resulta difícil. Para lograr esto pueden realizarse pruebas cutáneas, así como la proliferación de linfocitos *in vitro*.

EPIDEMIOLOGÍA

La varicela y el zoster ocurren en todo el mundo. La mayoría de las personas que viven en sociedades industrializadas contraen la varicela durante la niñez. Es una enfermedad epidémica y relacionada con la estacionalidad; tiene una alta incidencia en septiembre y hace picos en marzo y abril. Se disemina más fácil en países templados que en áreas tropicales. El hombre es el único huésped natural.

La vía de transmisión de una persona a otra no está bien dilucidada. Se ha planteado que es un virus de transmisión aérea y que se propaga con facilidad a través de las gotas de secreciones respiratorias y en menor medida por el contacto con las lesiones de piel. El período de transmisibilidad se extiende desde poco antes de la aparición del rash y hasta 5 días después. El zoster ocurre de forma esporádica entre adultos y sin prevalencia estacional. No es transmisible por sí mismo, pero sí puede contagiar a una persona susceptible produciéndole varicela, incluso iniciar brotes extensos.

La varicela es una enfermedad benigna, las muertes pueden ocurrir en un 7 y un 28 % de los casos de niños con leucemia y otras enfermedades inmunosupresoras, aunque con la terapia antiviral esta cifra ha disminuido.

No existen evidencias de que factores socioeconómicos afecten la incidencia de la infección por el VVZ.

Para la profilaxis de la infección por el VVZ en niños con alto riesgo e historia de exposición y en embarazadas, se ha usado inmunoglobulina específica contra el virus. Esta debe ser administrada lo más cerca posible a la fecha de exposición.

Otro método alternativo es la vacuna de virus vivo atenuado que ha sido empleada con éxito en Japón desde hace más de 25 años y en Estados Unidos fue aprobada hace 5 años. El tratamiento con aciclovir también ha contribuido a controlar la infección en niños inmunodeficientes.

TRATAMIENTO

En los individuos inmunocompetentes, la enfermedad es leve y no requiere tratamiento. Por el contrario, en inmunodeficientes, recién nacidos y adultos con riesgo de desarrollar complicaciones o una forma grave de la enfermedad es necesario utilizar algún tipo de tratamiento. Entre los antivirales que han demostrado ser eficaces contra la varicela se encuentran el aciclovir, valaciclovir, vidarabina e interferón leucocitario. La idoxuridina y la citarabina inhiben *in vitro* la replicación del VVZ, pero son demasiado tóxicos.

CITOMEGALOVIRUS

La infección por citomegalovirus se encuentra ampliamente diseminada en la especie humana. Alrededor de un 30 y un 50 % de los adultos han estado en contacto con el virus (tienen anticuerpos circulantes) cifra que se acerca al 100 % en subgrupos especiales de población como los homosexuales masculinos.

Es un patógeno ubicuo que raramente causa enfermedad en el huésped inmunocompetente.

PROPIEDADES GENERALES DEL VIRUS

El CMV es el miembro más grande de los herpesvirus humanos. Su diámetro global oscila entre 120 y 250 nm. Su genoma (240 kb) es de un tamaño mucho mayor que el del VHS.

Es un virus envuelto. El core tiene un diámetro de 30 a 60 nm y contiene ADN bicatenario. La cápside tiene un diámetro de 95 a 100nm y está formada por 162 capsómeros dispuestos con simetría icosaédrica.

Solo se han caracterizado algunas de las numerosas proteínas codificadas por el virus.

PATOGENIA

Se plantea que la transmisión del virus se produce por contacto estrecho entre personas. El virus puede encontrarse en orina, saliva, semen, leche materna y secreciones cervicales y es transportado por leucocitos circulantes. La propagación bucal y respiratoria son quizás las rutas predominantes de contagio del virus.

El virus también puede atravesar la placenta y transmitirse por transfusión sanguínea, trasplante de órgano y contacto sexual.

Tras su entrada el virus se multiplica localmente y luego se difunde (viremia prolongada) hacia múltiples sitios donde permanece latente: glándulas salivales, riñón, mamas, cerviz, adenoides, linfocitos, intestinos, entre otros.

Tras la primoinfección, generalmente, asintomática, el CMV puede permanecer en fase de latencia en las células mononucleares circulantes y, posiblemente, en leucocitos, tejido linfático y otros órganos.

La excreción del virus continua por años a menudo en forma intermitente cuando el virus latente se reactiva. Las reactivaciones pueden tener lugar en presencia de anticuerpos circulantes, con independencia de su título y de si estos son neutralizantes o no. El mejor contexto para que se produzca una reactivación es una depresión de la inmunidad celular, lo cual puede ocurrir en presencia de altos títulos de anticuerpos circulantes que a lo sumo sirven para disminuir la gravedad de las manifestaciones clínicas. La recuperación irá paralela a la adquisición de una capacidad citotóxica específica.

Patogenia de la infección en los inmunodeprimidos

El sistema inmune es el principal factor controlador que mantiene el estado de latencia en individuos seropositivos.

Después de un trasplante renal, por ejemplo, la mayoría de las personas comenzarán a hacer una infección productiva si se examinan apropiadamente, lo cual implica reactivaciones frecuentes del virus latente. La reactivación ocurre a pesar del status serológico del donante (aunque la infección es menos frecuente si un receptor seronegativo recibe el órgano de un donante seronegativo).

En inmunodeprimidos la infección recurrente está asociada con enfermedad de forma más frecuente que en huéspedes inmunocompetentes. Los eventos inmunológicos y virológicos que acompañan la infección por CMV están exagerados en comparación con lo que sucede en los inmunocompetentes. La expresión viral es más intensa y prolongada, puede ocurrir viremia crónica, la respuesta inmune humoral permanece intacta a pesar de la inmunosupresión. Los Acs se detectan alrededor de 2 semanas después del inicio de los síntomas, alcanzan su máximo entre 6 y 8 semanas después y posteriormente caen en meseta.

La IgM aparece tempranamente y puede persistir más tiempo en trasplantados; hasta 1 año. En estos pacientes la inmunidad mediada por células se deprime aun más.

La infección por CMV en los pacientes SIDA es una de las más frecuentes. En ellos produce enfermedad severa, incluyendo infección recurrente en individuos seropositivos. El VIH produce defectos funcionales en las células responsables de la inmunidad mediada por células especialmente los linfocitos CD₄⁺. Se producen defectos específicos de la inmunidad mediada por células contra el CMV y el CMV contribuye a la inmunosupresión. *In vitro* se ha demostrado la presencia de una potencialización bidireccional de la infectividad entre CMV y VIH.

Patogenia de la infección congénita y perinatal

El CMV humano puede ser transmitido intraútero como consecuencia de la infección materna primaria o reactivada a lo largo de toda la gestación, pero existen evidencias que la infección es más grave cuando se adquiere en la primera mitad del embarazo. A pesar de que la inmunidad materna influye, la inmadurez del sistema inmune del feto y el recién nacido es un determinante de la virulencia de la infección congénita y postnatal temprana.

La infección congénita se asume como resultado de una viremia materna con posterior infección de la placenta y diseminación hematológica al feto.

Otras posibilidades teóricas incluyen la infección transovárica, la infección ascendente a través de un espermatozoide infectado o la reactivación local de la infección en el endometrio, miometrio o canal cervical.

La incidencia de infección congénita por CMV en países desarrollados es de aproximadamente de 0,3 a 2 %, la mayoría mueren durante los primeros días de vida o presentan secuelas neurosensoriales severas.

Las infecciones por CMV adquiridas en el período perinatal se producen como resultado de la exposición a secreciones genitales de la madre infectada en el momento del parto, (30-50 %) o a través de la lactancia materna durante los primeros meses de la vida postnatal. En la actualidad como esta práctica es casi universal, la prevalencia de infección por esta vía oscila entre un 28 y un 100 % al año de edad. La transmisión perinatal también puede ocurrir a través de transfusiones sanguíneas, particularmente cuando sean transfundidas grandes cantidades de sangre.

PATOLOGÍA

En humanos el CMV infecta células epiteliales y raramente células fibroblásticas en contraste con lo que se produce *in vitro*. La glándula parótida es la que más frecuentemente se encuentra involucrada en la infección, ocasionalmente la submandibular y rara vez las sublinguales. El epitelio del conducto es el mayor sitio de daño.

La viruria es un hallazgo muy frecuente cuando hay daño renal. Las células citomegálicas están más pronunciadas en los túbulos proximales cercanos a las áreas corticales. Los complejos inmunes pueden depositarse en los glomérulos.

Otros órganos afectados son: tracto gastrointestinal, oído interno, cóclea, glándulas suprarrenales, ovarios, huesos, páncreas y piel. Durante la gestación la respuesta inflamatoria y las células gigantes pueden ser difíciles de demostrar tardíamente en la gestación. La infección puede causar inflamación difusa, infiltración plasmática, necrosis focal y hemorragia con o sin células citomegálicas detectables en la placenta.

DATOS CLÍNICOS

Infecciones adquiridas en el huésped inmunocompetente

El CMV causa el 8 % de todos los casos de mononucleosis infecciosa.

El síndrome mononucleósico espontáneo aparece fundamentalmente como consecuencia de una infección primaria en el rango de edad entre 15 y 60 años.

La reactivación o la reinfección también pueden resultar en este síndrome, pero menos frecuentemente.

La enfermedad se caracteriza por malestar general, mialgia, fiebre, mal funcionamiento hepático, linfocitosis con exceso de linfocitos atípicos en ausencia de linfadenopatías y reactividad heterófila al VEB, aunque el curso es moderado.

El cuadro clínico es dominado por picos de fiebre irregular que puede durar tres semanas. La linfocitosis persiste de meses a años después de la recuperación aunque los linfocitos atípicos clásicos desaparecen rápidamente.

Hay hepatitis subclínica: aumento de las enzimas hepáticas que pueden persistir de 4 a 6 semanas, pero el íctero es poco frecuente. No se ha reportado enfermedad crónica del hígado en niños grandes y adultos. Lo más frecuente son adenopatías cervicales y axilares, en ocasiones esplenomegalia, hepatomegalia, odinofagia sin faringitis, cefalea persistente y rash morbiliforme inespecífico en el tronco y las extremidades. Rara vez la infección por CMV provoca complicaciones, así como enfermedad fulminante con fallo multiórgano y muerte.

En la mononucleosis por CMV se pueden detectar anomalías inmunológicas (50 % de los casos): aumento de los títulos de las aglutininas en frío, crioglobulinemia mixta (IgG, IgM ó IgA), factor reumatoideo positivo, hipergammaglobulinemia policlonal, Acs antinucleares, Prueba de Coombs +.

En los niños menores de 7 años la infección puede causar hepatitis anictérica con anomalías de la función hepática, hepatomegalia y ausencia de otros síntomas de mononucleosis infecciosa.

Los niños que presentan un mayor riesgo son los niños institucionalizados, niños en contacto estrecho con excretores de CMV.

En los menores de 4 años la infección puede aparecer como una infección respiratoria severa, bronquitis o neumonía caracterizada por tos paroxística simulando tos ferina que persiste de 2 a 6 meses. Una forma similar, pero afebril se presenta en menores de 6 meses.

Mononucleosis postransfusión. La mononucleosis por CMV puede seguir a la administración de grandes volúmenes de sangre o sus productos y puede ser resultado de una infección primaria o una reactivación en niños y adultos.

Este síndrome originalmente fue descrito con aparición abrupta de picos febriles seguidos de linfocitosis con exceso de linfocitos atípicos y esplenomegalia. La enfermedad aparece como promedio 4 semanas después de la administración de sangre, aunque en ocasiones aparece de 1 a 2 semanas después. A diferencia de la mononucleosis espontánea, la esplenomegalia es frecuente y persiste semanas y meses después de la infección. Las anomalías en la función hepática no aparecen, constantemente, en esta forma. La fiebre es más esporádica y en ocasiones no se presenta. Con excepción del malestar general y las mialgias los síntomas constitucionales son raros y las complicaciones infrecuentes.

Infección congénita y perinatal

La infección congénita por CMV puede causar la muerte del feto intraútero.

En los Estados Unidos el 1% de los recién nacidos vivos con infección congénita por CMV tienen síntomas y signos al nacimiento. Solamente la mitad de estos niños presentan la enfermedad de inclusión citomegálica caracterizada por hepatoesplenomegalia, microcefalia, íctero y petequias. La microcefalia puede estar acompañada de calcificación cerebral, retardo del crecimiento intrauterino y prematuridad.

Hallazgos menos frecuentes incluyen la hidrocefalia, anemia hemolítica, neumonitis, defectos oculares como coriorretinitis, estrabismo, atrofia del nervio óptico, microftalmía, catarata, entre otros. Se reporta que aproximadamente el 14 % de los recién nacidos con infección congénita por CMV presentan coriorretinitis.

La sordera neurosensorial bilateral probablemente es la alteración más común causada por la infección congénita por CMV. El 58 % de los niños supervivientes presentan algún grado de defecto auditivo y esto conduce a dificultades en la comunicación verbal y el aprendizaje.

Aunque existen pocas evidencias para que el CMV pueda ser considerado un virus teratogénico, defectos anatómicos como hernia inguinal, anomalías del primer arco branquial, defectos en el esmalte de los dientes, hipotonía generalizada y cuadruplejía espástica están

presentes en asociación con infección congénita por CMV. Aunque las manifestaciones clínicas son variables, frecuentemente la infección no es reconocida en el momento del nacimiento y algunas complicaciones pueden tardar años en ser identificadas como son el retardo psicomotor, la disfunción neurológica, defectos de la audición, entre otros.

Entre los niños más severamente afectados, la mortalidad puede ser tan alta como un 30%. La mayoría de las muertes ocurren en el período neonatal debido a fallo multiórgano con disfunción hepática severa, sangramiento, coagulación intravascular diseminada e infección bacteriana secundaria.

Las infecciones por CMV adquiridas en el período perinatal se producen como resultado de la exposición a secreciones genitales de la madre infectada en el momento del parto, (30-50%) o a través de la lactancia materna durante los primeros meses de la vida postnatal.

Diversos estudios han confirmado el modo de transmisión de persona a persona. La tasa de infección por CMV es alta entre niños atendidos en guarderías y existen evidencias de que la infección en estos casos se produce debido a transmisión horizontal entre niños.

Una fuerte evidencia que soporta este tipo de transmisión fue obtenida por análisis de los patrones de restricción enzimática del ácido desoxirribonucleico (ADN) del CMV de aislamientos obtenidos de niños infectados que se encuentran en guarderías. La transmisión perinatal también puede ocurrir a través de transfusiones sanguíneas, particularmente cuando sean transfundidas grandes cantidades de sangre. La mayoría de los niños son asintomáticos y la infección no parece tener efectos adversos sobre el crecimiento, funciones perceptuales o motoras o el desarrollo psicosocial. Sin embargo, el CMV ha sido incriminado como causa de neumonitis en niños menores de 4 meses de edad. Los lactantes comienzan a eliminar virus a las 8 y 12 semanas de edad y continúan la excreción durante varios años, aunque permanecen sanos.

Infección en inmunodeprimidos

Las infecciones primarias por CMV en pacientes inmunodeprimidos son mucho más graves que en los inmunocompetentes. Las personas con mayor riesgo son los receptores de trasplante de órganos, pacientes con cáncer bajo terapia inmunosupresora y en especial los pacientes SIDA.

Después del síndrome mononucleósico, la neumonía es la manifestación más frecuente en los inmunodeprimidos, la cuál resulta más severa en los trasplantados de médula ósea. Esta puede tener un curso variable; resolver espontáneamente o avanzar a una marcada insuficiencia respiratoria y muerte.

En los receptores de trasplante renal se observa con frecuencia una hepatitis con hepatomegalia, íctero y funcionamiento hepático anormal que desaparece espontáneamente en un mes.

El porcentaje de pacientes con SIDA e infección sintomática o asintomática por CMV se aproxima al 100%. En este tipo de pacientes el CMV puede causar enfermedad en múltiples sitios incluyendo retina, aparato gastrointestinal (cavidad oral, esófago, estómago, intestino delgado, colon y región perirrectal), hígado, pulmón, piel, SNC.

INMUNIDAD

La respuesta de Acs en la infección por CMV incluye Acs IgM, IgA e IgG. Los Acs de tipo IgM son los primeros en ser detectados y están dirigidos contra componentes internos y externos del virión. Ellos persisten aproximadamente 16 semanas después de la infección primaria. Los Acs IgG son detectados de 2 a 3 semanas después del comienzo de los síntomas de mononucleosis infecciosa por CMV y alcanzan su pico de 1 a 2 meses postinfección. Esta respuesta persiste de por vida.

De los componentes de la cápside viral, la respuesta de Acs contra la proteína mayor de la cápside parece ser la más persistente, aunque en estudios realizados casi siempre se han identificado Acs contra dos fosfoproteínas del tegumento.

La IgM en pacientes inmunocompetentes no siempre está presente y es transitoria por lo que su ausencia no descarta infección reciente. En los inmunocomprometidos se produce IgM durante las reactivaciones.

La inmunidad celular, contrario a lo que ocurre con la inmunidad humoral se deprime con la infección primaria sintomática, principalmente la función de las células T. La blastogénesis *in vitro* se encuentra disminuida frente al CMV y esta se recupera durante la convalecencia. Se produce inversión del índice CD4/CD8 y presencia de linfocitos atípicos.

En la infección congénita se detecta IgG materna e IgM producida por el feto. Los Acs adquiridos a través de la placenta protegen contra la transmisión al 50 % de los casos.

DIAGNÓSTICO

Aislamiento del virus

El mejor método para diagnosticar la infección por CMV es el aislamiento viral. Este método puede demorar hasta 6 semanas hasta la aparición del efecto citopático característico. Debido a este problema se han desarrollado métodos de diagnóstico rápido que incluyen la observación de cuerpos de inclusión en tejidos o células descamadas que se encuentran en la orina, saliva, leche materna, secreciones cervicales y traqueales. Este método provee un diagnóstico específico, pero es poco sensible. Algunas biopsias (hígado, pulmón) pueden contener células infectadas con CMV las cuales pueden ser detectadas mediante inmunofluorescencia usando anticuerpos monoclonales. La microscopía electrónica y las técnicas de biología molecular como la RCP y la hibridación de ácidos nucleicos también permiten un diagnóstico rápido.

Las muestras usadas para el aislamiento son orina, saliva, lágrimas, sangre, semen, leche materna, secreciones vaginales y cervicales, lavado broncoalveolar, LCR, elementos de la sangre y material de biopsia y necropsia y deben ser conservadas a 4 °C hasta su utilización. Estas muestras pueden ser inoculadas en monocapas de fibroblastos de pulmón embrionario humano, cultivos de piel embrionaria, músculos, WI38, MRC5. La aparición del efecto citopático se produce alrededor de 21 días después de la inoculación y consiste en pequeños focos de células que se han tornado redondeadas, translúcidas con inclusiones intranucleares. Es posible realizar la detección de antígenos inmediatos tempranos en el cultivo en un período de 72 h mediante el shell vial y empleando Acs monoclonales dirigidos contra las proteínas α y β de CMV.

La detección de antígenos virales también puede realizarse mediante ELISA.

Resulta importante señalar que el aislamiento no distingue entre infección primaria y recurrente. Poseer un cultivo positivo no siempre significa que se ha identificado la causa del cuadro clínico, pues muchas infecciones por CMV cursan de forma asintomática, pero además se plantea que las personas sanas excretan virus en orina al menos una vez al año.

El examen citológico del material de biopsia, la citología exfoliativa de cérvix permiten identificar las células gigantes características de la infección con inclusiones intranucleares. Se aprecia el ojo de buho que consiste en células agrandadas en forma notable (citomegalia), translúcidas, con una inclusión intranuclear eosinófila grande e inclusiones citoplasmáticas perinucleares, más pequeñas y basófilas.

Serología

La detección de Acs IgG se ha empleado como un marcador de infección pasada. Estos pueden ser detectados mediante neutralización, fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta, radioinmunoanálisis, ELISA e inhibición de la hemaglutinación.

El aislamiento acoplado a la detección de seroconversión es la mejor evidencia de infección primaria por CMV en huéspedes inmunocompetentes. El diagnóstico de infección recurrente se realiza por exclusión. En ausencia de Acs IgM y la presencia de un aumento significativo de los títulos de IgG por más de 2 meses implica infección recurrente por CMV.

En ocasiones resulta importante distinguir entre una infección reactivada y una reinfección. Para conocer esto es necesario realizar el análisis del ADN con enzimas de restricción y estudios moleculares que demuestren homología o heterogeneidad entre aislamientos obtenidos a partir de muestras diferentes de un mismo paciente.

Infeción congénita

La presencia de CMV en un neonato de menos de 3 semanas de nacido es indicativo de infección congénita. La prueba más específica y sensible para el diagnóstico de infección congénita por CMV continúa siendo el aislamiento viral en cultivo de tejidos, aunque resulta caro, laborioso y prolongado. Para confirmar la infección congénita por CMV el aislamiento debe producirse en las dos primeras semanas de vida, debido a que la excreción viral a partir de este momento puede representar una infección adquirida en el momento del parto por exposición a secreciones de la madre infectada, o adquirida en el período neonatal por exposición a la leche materna, transfusiones de sangre o hemoderivados.

La orina es la muestra ideal por contener la mayor cantidad de virus y tener gran estabilidad. Otras muestras empleadas son: saliva, secreciones genitales, material de biopsia y necropsia, sangre del cordón umbilical, entre otros.

Durante la infección congénita por CMV la producción de anticuerpos comienza intraútero, y continúa durante toda la vida del huésped. Después de la infección adquirida postnatalmente, los anticuerpos también son producidos por períodos prolongados.

Las pruebas serológicas que miden los niveles de anticuerpos IgG son fáciles de desarrollar y están ampliamente disponibles. La interpretación correcta es casi siempre complicada debido a la presencia de anticuerpos clase IgG que son transferidos de la madre al feto. Un título de anticuerpos negativo en sangre del cordón umbilical y en el suero materno es una evidencia suficiente que excluye el diagnóstico de infección congénita.

En recién nacidos no infectados, hijos de madres seropositivas, los títulos de IgG disminuyen aproximadamente al mes de nacidos, y desaparecen entre los cuatro y nueve meses de edad, dependiendo del título inicial y la sensibilidad de la prueba utilizada. En los recién nacidos infectados, los niveles de IgG persisten por períodos prolongados y los títulos son más altos que los de la madre.

Cuando la infección es adquirida en el período perinatal, los métodos serológicos de rutina no permiten la distinción entre este tipo de infección y la adquirida congénitamente. En ambos casos los títulos de IgG tienden a permanecer estables por varios meses. Dentro de los ensayos serológicos descritos para la detección de anticuerpos IgG contra CMV se encuentran: la fijación del complemento, la inmunofluorescencia, radioinmunoensayo, hemaglutinación indirecta, ELISA, y Western Blott.

La detección de anticuerpos de tipo IgM en la sangre del cordón umbilical y suero del neonato constituye el método más práctico para el diagnóstico de infección congénita; estos anticuerpos no son transferidos a través de la placenta. El primer método disponible para la detección de IgM fue la inmunofluorescencia. En la actualidad son empleados el radioinmunoanálisis; ELISA de captura de IgM, entre otros.

Algunos autores reportan que el diagnóstico de infección congénita puede ser mejorado por la detección simultánea de anticuerpos IgE e IgM específicos mediante un ELISA de captura de anticuerpos; a pesar de esto, para obtener un diagnóstico rápido y definitivo de infección congénita en neonatos enfermos y asintomáticos, es necesario continuar las investigaciones en esta área.

EPIDEMIOLOGÍA

La infección por CMV se encuentra ampliamente diseminada en la especie humana. Es endémico en todas partes del mundo y no se conocen epidemias. Se presenta durante todo el año y no tiene predilección por determinadas estaciones.

La prevalencia de la infección por CMV en países en vías de desarrollo y estratos socioeconómicos bajos de países desarrollados es alta.

En África y el sur del Pacífico, el rango de seropositividad es de un 95 a un 100 % entre los niños en edad preescolar, mientras que en Gran Bretaña y ciertas poblaciones de los Estados Unidos se encuentra que menos del 20 % de los niños con edad similar son seropositivos. El nivel de inmunidad entre las mujeres en edad fértil también varía ampliamente entre diferentes poblaciones, factor que influye en la incidencia y relevancia de la infección congénita y perinatal por CMV. Diversos autores reportan que el rango de seropositividad en mujeres jóvenes en los Estados Unidos y el oeste de Europa oscila

entre un 50 y un 85 %. Sin embargo, en Japón, Chile y Guatemala, el rango de seropositividad es mayor de un 90 % al final de la segunda década de la vida.

La incidencia de infección congénita por CMV en Francia, es de aproximadamente 1 500 niños por año, la mayoría mueren durante los primeros días de vida o presentan secuelas neurossensoriales severas.

Anualmente en Estados Unidos el 1 % de los recién nacidos vivos con infección congénita por CMV tienen síntomas y signos al nacimiento, pero solamente la mitad de estos niños presentan la enfermedad de inclusión citomegálica.

El único reservorio conocido es el hombre.

Las infecciones por CMV se transmiten por contacto estrecho entre las personas. El virus se excreta en saliva, orina, semen, leche materna, secreciones cervicales y es transportado en la sangre por leucocitos circulantes. El contagio se produce por exposición a secreciones infecciosas, aunque es de señalar que la propagación oral y respiratoria son las rutas dominantes. Las adquiridas en el período perinatal se producen como resultado de la exposición a secreciones genitales de la madre infectada en el momento del parto, o a través de la lactancia materna durante los primeros meses de la vida postnatal debido a transmisión horizontal entre niños.

La transmisión perinatal también puede ocurrir a través de transfusiones sanguíneas.

El período de incubación de la infección oscila en el rango entre 4 y 8 semanas después de la exposición y el virus se excreta en la orina y saliva durante varios meses. La susceptibilidad es universal. Los fetos, pacientes con enfermedades debilitantes, inmunodeprimidos (pacientes con SIDA, trasplantados, pacientes con cáncer), son más susceptibles a la enfermedad.

Para la prevención de la infección por CMV se han usado dos vacunas de virus vivo atenuado con el uso de las cepas AD169 y la cepa Towne. Los candidatos ideales para recibir dicha vacuna serán mujeres seronegativas que desean quedar embarazadas y receptores de trasplante seronegativos. En comparación con la infección natural, la replicación del virus vacunal está restringida, no se puede detectar la excreción viral en orina, faringe o semen. No parece transmitirse a los individuos susceptibles con los que el paciente vacunado tiene contacto. En pacientes trasplantados la vacunación reduce la virulencia de la infección primaria, pero no protege contra la infección.

El uso de vacunas de virus vivos tiene detractores porque no se conoce con exactitud la duración y protección que confiere y cual es la población a vacunar. ¿Podrá proteger contra la reinfección una vacuna de una sola cepa? ¿Tendrá potencial oncogénico ese ADN extraño?

Se han usado péptidos purificados de CMV que inducen Acs neutralizantes, pero se plantea que una vacuna de subunidades garantizará mejores resultados.

El uso de interferón leucocitario a altas dosis o bajas dosis de interferón alfa recombinante ha sido usado como profilaxis de la infección por CMV en trasplantados de médula ósea y riñón. El uso del aciclovir y el ganciclovir antes y después del trasplante reduce la infección y aumenta la supervivencia. El plasma y la globulina hiperinmune también han resultado útil en la profilaxis de la infección en este tipo de pacientes.

TRATAMIENTO

Los dos fármacos antivíricos con actividad frente al CMV son el ganciclovir y el foscarnet. El aciclovir administrado a altas dosis puede tener cierta utilidad para reducir la frecuencia y la gravedad de la infección por CMV en receptores de trasplante de órganos sólidos y médula ósea. El ganciclovir constituye la droga de elección para el tratamiento de la coriorretinitis y colitis por CMV que afecta a los pacientes con SIDA. Recientemente se ha reportado el hallazgo de cepas de CMV resistentes al ganciclovir. Otros antivirales como la vidarabina, el interferón, el factor de transferencia se han probado como tratamientos de la enfermedad citomegálica.

VIRUS *EPSTEIN-BARR*

El VEB es otro de los miembros de la familia de los herpesvirus. Fue descubierto durante las investigaciones que se realizaban para conocer la etiología del linfoma de Burkitt. En 1964, Epstein, Barr y Pulvertaf reportaron, simultáneamente, el intento exitoso de establecer una línea celular linfoblastoide a partir de explanto de linfoma de Burkitt, posteriormente se encontraron partículas similares a un herpesvirus en dicha línea celular llamándole *Epstein-Barr*. Ellos desarrollaron una inmunofluorescencia indirecta y detectaron seroconversión a *Epstein-Barr* en pacientes con mononucleosis infecciosa y en otros aparentemente sanos.

PROPIEDADES DEL VIRUS

Este virus difiere del resto de los herpesvirus humanos en que su genoma de ADN contiene aproximadamente 172 kpb con un arreglo característico de su secuencia.

Contiene secuencias terminales repetidas de 0,5 kpb y secuencias internas de 3 kpb que dividen el genoma en secuencias únicas cortas y largas.

Se han descrito dos variantes del virus: EB 1 ó A y EB 2 ó B. La principal diferencia que se han encontrado entre sus genomas se localiza en los genes EBNA 2 del ciclo de infección latente.

El VEB tiene la capacidad de immortalizar al linfocito B con una elevada eficiencia.

El virus inicia la infección al unirse a un receptor específico (CD₂₁) en la superficie de los linfocitos B maduros y en baja densidad en linfocitos pre B o B inmaduros. Las células epiteliales también expresan un receptor proteico de 200 KD homólogo al CD₂₁. Algunos linfocitos T expresan este receptor, pero no se conoce su significado y repercusión clínica. Este receptor es el que se une al componente C3d del complemento. La gp 220 y la gp 350 son los antígenos de superficie del virus que se unen al receptor celular y son los antígenos más inmunogénicos que estimulan la producción de Acs neutralizantes.

Una vez que el virus se une al receptor viral en la superficie celular esta se activa para entrar a su ciclo celular y adquiere la propiedad de reproducirse indefinidamente (inmortalización). En las células immortalizadas el ADN viral puede existir como plásmido circular (extracromósico y covalentemente cerrado) y también se ha identificado integrado al genoma celular. Los linfocitos B immortalizados expresan funciones como la de secretar inmunoglobulinas y también se expresan productos de la activación de la célula (CD₂₃), así como al menos 10 productos del gen viral, antígenos nucleares del virus y dos proteínas latentes de la membrana. El virus, sin embargo, en el interior del linfocito entra directamente a un estado latente sin pasar por un período de replicación completa. La latencia puede interrumpirse y el genoma del virus activarse por diferentes estímulos para iniciar la replicación en la célula.

El virus es capaz de replicarse *in vitro* solo en los linfocitos B. *In vivo* las células dianas son: células epiteliales de la orofaringe, de la glándula parótida y del cuello uterino. También se encuentra en las células epiteliales de algunos carcinomas nasofaríngeos.

Sistemas antigénicos

Se han definido tres clases diferentes de sistemas antigénicos del VEB, basados en la fase del ciclo viral en que se expresan.

1. Antígenos de fase latente. Incluye a los EBNA (*Epstein-Barr nuclear antigen*) que son 6 tipos y a los LMP (*Latent membrane protein*). Son antígenos nucleares que se expresan durante la latencia. Son polimórficos y varían estructuralmente de una cepa a la otra. La respuesta de Acs contra ellos es diferente entre varios individuos excepto EBNA 1 contra el cual la gran mayoría de los individuos infectados producen Acs. Estos antígenos indican presencia del genoma viral. Es el primer antígeno detectado en las células B infectadas, aproximadamente de 12 a 14 h después de la infección y antes de la replicación. Los anticuerpos contra EBNA se elevan tardíamente (3 semanas a 6 meses) después del inicio de la infección. La LMP es una proteína asociada a la membrana citoplasmática de vida media corta que no induce la síntesis de anticuerpos y forma parte del complejo LYDMA (*Lymphocyte detected membrane antigen*).

El complejo LYDMA esta constituido por la LMP, EBNA2 y antígenos celulares del complejo mayor de histocompatibilidad. Se expresan después del EBNA y coinciden con la síntesis del ADN, aunque es independiente de esta. Es reconocido por las células T citotóxicas.

2. Antígenos replicativos tempranos (EA): Son sintetizados cuando el virus sale de su fase latente e inicia la fase replicativa. Están constituidos por un grupo de proteínas no estructurales que participan en la síntesis del ácido nucleico viral. Solo se expresa en aquellas células que han entrado en el ciclo lítico. Está constituido por 2 componentes llamados *difuso* y *restringido*, que se han denominado así sobre su distribución en la célula y de acuerdo con la solubilidad diferencial en metanol. Los anticuerpos contra los antígenos tempranos de tipo IgG están presentes desde el final del período de incubación y duran hasta el período de convalecencia temprana de la mononucleosis infecciosa (6 meses), durante la reactivación de la infección latente o en algunos pacientes con el síndrome de fatiga crónica.
3. Antígenos tardíos: Incluyen al antígeno VCA (*viral capsid antigen*) que es un componente de la cápside viral y al antígeno VMA (*viral membrane antigen*) de la envoltura viral que se sintetizan en abundancia en células que sufren infección viral productiva, pero tardíamente durante el ciclo replicativo. Los anticuerpos de tipo IgM dirigidos contra VCA indican infección aguda, reciente o en curso y los de tipo IgG indican infección pasada y persisten de por vida. Se considera la mayor herramienta en los estudios epidemiológicos.

PATOGENIA

Mononucleosis infecciosa. La principal puerta de entrada del virus es la orofaringe a donde llega a través de la saliva infectada. El virus se replica en las células epiteliales faríngeas, bucales y glándulas salivales (parótidas) manteniéndose la excreción viral por semanas y meses. Los antígenos replicativos virales han sido detectados en células epiteliales descamadas y el genoma viral ha sido detectado en el epitelio ductal y células epiteliales descamativas, también en secreciones vaginales y en células cervicales. A partir de aquí el virus se disemina por vía hematogena infectando los linfocitos B donde se mantiene latente y son estos los responsables de la diseminación del virus hacia el sistema retículo endotelial.

Las células B infectadas por el VEB son estimuladas de forma policlonal por lo que además de Acs IgG, IgA e IgM, este último en menor medida, se producen autoanticuerpos. Los autoanticuerpos típicos son anticuerpos heterófilos del tipo de las aglutininas frente a hematíes de carnero y caballo, hemolisinas de hematíes de buey. La infección puede activar células B no infectadas que son fuente de autoanticuerpos que reaccionan con componentes del citoesqueleto. Esta inducción secundaria de Acs: Acs antinucleares, Acs antimitocondriales, Acs antiplaquetarios, hemolisinas, leucoaglutininas provocan lesión celular que puede tener importancia en las complicaciones.

Linfoma de Burkitt. En 1958, Dennis Burkitt, cirujano inglés describe un tumor linfático con frecuencia extraganglionar, endémico de África, aunque se han reportado casos en todo el mundo. Constituye la enfermedad donde primero se pudo aislar este virus. En esta enfermedad el oncogen c-myc situado en el brazo largo del cromosoma 8 sufre una translocación habitualmente al cromosoma 14 (zona adyacente al gen que codifica para las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas), en otras ocasiones la translocación se produce al cromosoma 2 donde está el gen que codifica para las cadenas ligeras Kappa o al cromosoma 22 donde está el gen que codifica para las cadenas ligeras Lambda. Estas translocaciones conducen a una regulación deficiente de la expresión del protooncogen c-myc. Se desconoce el mecanismo por el cual las células del linfoma de Burkitt escapan a la eliminación por el sistema inmunitario del huésped.

Carcinoma nasofaríngeo. Es un cáncer de células epiteliales poco diferenciado, agresivo y común en personas adultas (20-50 años) del sexo masculino en provincias del sur de China y con una frecuencia anual de 10 x 100 000 habitantes. En esta enfermedad a diferencia del linfoma de Burkitt no hay cambios cromosómicos consistentes. Se habla de factores genéticos y ambientales que influyen en el desarrollo de la enfermedad, particularmente se

ha relacionado con la ingestión de pescado salados con nitrosamina. Está bien documentado que el VEB tiene relación con la etiología de esta enfermedad. Se ha detectado ADN viral en las células del carcinoma de diferentes partes del mundo, elevación del título de Acs contra el antígeno VCA y EA.

Enfermedades linfoproliferativas en el huésped inmunocomprometido. En este tipo de pacientes la infección por el VEB induce trastornos linfoproliferativos que pueden ser mortales. No existen evidencias de relación de estos con alteraciones cromosómicas. La enfermedad puede desarrollarse después de la infección primaria en las personas afectadas por una inmunodeficiencia congénita o adquirida. En el caso particular de los pacientes con SIDA podemos encontrar varias patologías vinculadas con el VEB: linfoma policlonal difuso en diversas localizaciones como SNC, mediastino y pleura, neumonía intersticial linfocítica y leucoplasia vellosa de la lengua.

DATOS CLÍNICOS

Mononucleosis Infecciosa. La gran mayoría de las infecciones por el VEB se presentan de forma silente y tempranamente en la vida; entre los 3 y los 5 años de edad. Durante la primera infancia la enfermedad es asintomática o atípica, el pico de incidencia ocurre en la adolescencia y adultos jóvenes. Generalmente, se presenta con síntomas poco específicos: astenia, cefalea, mialgia, artralgia, dolor abdominal y anorexia, seguidos de fiebre que es casi constante y en ocasiones va acompañada de escalofríos, inflamación faringoamigdalitis caracterizada por odinofagia intensa.

En el 10 % de los casos aparece exantema petiquial en el límite entre el paladar óseo y el blando que puede ser un signo de cierto valor diagnóstico. Otros signos son las adenopatías localizadas en la región cervical posterior, submaxilar y lateral cervical. En el 50 % de los casos aparece esplenomegalia ligera y hepatomegalia que rara vez se acompaña de ictero. Puede aparecer un exantema escarlatiniforme o urticariforme en un pequeño porcentaje de los casos.

Las complicaciones son poco frecuentes, aunque se han reportado casos de meningitis, encefalitis, ruptura esplénica, neumonía, anemia hemolítica, trombocitopenia ligera, entre otras.

La recuperación ocurre de 1 a 4 semanas después de comenzada la enfermedad. En ocasiones el paciente refiere decaimiento y recurrencia de síntomas y signos que pueden prolongarse por un período de tiempo largo.

Síndrome de inmunodeficiencia familiar recesiva ligada al cromosoma X (Síndrome de Duncan). Generalmente, aparece en hombres portadores del gen xlp y que desarrollan un síndrome linfoproliferativo. Esta alteración tiene como consecuencia una respuesta inmune alterada a la infección por el VEB. La edad de presentación es aproximadamente a los 6 años y existen tres formas clínicas: infección mononucleósica grave (75 %), linfoma (15 %) e hipogammaglobulinemia (10 %).

El diagnóstico se hace prenatal a mujeres que pertenezcan a familias con antecedentes de este síndrome.

Síndrome de fatiga crónica. Diversos autores atribuyen entre la etiología de este síndrome la infección por VEB. Teóricamente se plantea que el agente persiste de forma latente y se producen reactivaciones frecuentes. Hechos que apoyan esta teoría se basan en el hallazgo de pacientes con altos títulos de Acs contra el antígeno VCA y EA y ausencia de Acs contra EBNA traduciéndose como una infección reciente o activa. El cuadro se caracteriza por una amplia gama de síntomas que incluyen: anorexia, fatiga intensa, odinofagia, cefalea, febrícula y pérdida o ganancia de peso. También se han descrito alteraciones cognitivas, del carácter y del sueño.

Enfermedad congénita. La importancia del VEB como un teratógeno potencial no está definida aún. Existen pocos casos reportados que sugieran una embriopatía como resultado de la infección congénita por el VEB. La infección durante el embarazo ha sido asociada con un alto grado de desgaste fetal. Se ha planteado que puede ser causa de abortos espontáneos y partos prematuros. En general, se necesitan un mayor número de estudios para determinar el riesgo del feto cuando una mujer embarazada presenta una infección primaria por este virus.

Linfoma de Burkitt. Se observa a cualquier edad, pero resulta más frecuente entre los 4 y los 8 años con predominio en el sexo masculino.

Se describen dos patrones epidemiológicos:

1. El africano, cuya localización más frecuente es la región mandibular seguida de la abdominal que afecta al tubo digestivo, los ovarios y el retroperitoneo. Aunque resulta poco frecuente el cuadro puede acompañarse de adenopatías que afectan un solo territorio ganglionar, hepatoesplenomegalia, invasión de la médula ósea y en un 10 % de los casos invasión del SNC.
2. El patrón fuera de África (Malasia, Brasil y Colombia) se localiza en el 75 % de los casos en la cavidad abdominal y se acompaña de anemia, linfopenia, leucocitosis, entre otras alteraciones.

Carcinoma nasofaríngeo. La sintomatología depende de la localización primaria de la tumoración en la nasofaringe. Puede presentarse como una masa cervical debido a adenopatías metastásicas, con obstrucción nasal o epistaxis como consecuencia de la obstrucción de los senos perinasales, con toma de pares craneales, con disminución de la audición unilateral, otitis media y tinnitus por obstrucción de la trompa de Eustaquio u otra sintomatología relacionada con metástasis ósea, hepática, en piel o pulmón. El diagnóstico se realiza mediante la detección de Acs Ig A séricos contra el antígeno VCA.

VEB asociado al SIDA. Los pacientes con SIDA desarrollan tres tipos diferentes de lesiones:

1. Linfomas policlonales difusos, frecuentes en sitios extraganglionares como SNC, mediastino y pleura.
2. Neumonía intersticial linfoide.
3. Leucoplasia vellosa de la lengua.

Asociación de Epstein-Barr con las colagenosis. Existen reportes bien documentados de la asociación de la infección por VEB y las siguientes patologías:

1. Síndrome de Sjogren.
2. Artritis reumatoide.
3. Lupus eritematoso sistémico.
4. Sarcoidosis.
5. Ataxia telangientásica.

Por último se ha relacionado la infección crónica por este virus con el síndrome de fatiga crónica, trastornos hematológicos, hepatitis y neumonitis.

INMUNIDAD

La infección por EBV produce una respuesta inmune intensa que consiste en Acs frente a una gran variedad de productos virales, respuesta inmune celular y secreción de linfoquinas. Los Acs neutralizantes pueden actuar tratando de limitar la enfermedad, aunque son de poco valor en la fase de replicación a nivel de la orofaringe. Los mecanismos de inmunidad celular también juegan un papel importante en el control de los linfocitos infectados por el virus. Dentro de estos se encuentran las células naturales asesinas, las células T8 citotóxicas. Tanto el interferón α como el γ parecen participar en el control de la infección. La combinación de estas respuestas suprime la proliferación de las células B y deprime, pero no elimina la replicación a nivel de la orofaringe.

DIAGNÓSTICO

Desde el punto de vista del laboratorio clínico el hallazgo de células mononucleares atípicas (son linfocitos de gran tamaño con un citoplasma espumoso basófilo y el núcleo fenestrado que constituyen el 50 y 90 % de los linfocitos circulantes) en sangre periférica es un elemento esencial para el diagnóstico.

El aislamiento viral no se practica habitualmente porque consume mucho tiempo (más de 4 semanas), se realiza mediante cocultivo que es una técnica laboriosa y que necesita un equipo especializado. También puede realizarse el aislamiento de linfocitos B de pacientes infectados con el virus mediante transformación blástica o mediante la inmortalización de linfocitos normales. La demostración del virus en un cultivo no indica positividad, ya que este normalmente establece latencia.

Las muestras que pueden ser utilizadas son: saliva, lavado faríngeo, sangre, tejido linfóide y material de biopsia y necropsia.

El diagnóstico serológico de la mononucleosis infecciosa se viene realizando de forma tradicional mediante la detección de anticuerpos heterófilos mediante la técnica de Paul Bunnell y el test de Davidson y que aparecen en los primeros momentos de la enfermedad y desaparecen en unos pocos meses. Sin embargo, este método tiene el inconveniente de que son relativamente frecuente los casos que cursan sin la aparición de estos Acs, especialmente cuando la infección se produce en niños pequeños, por lo que es preciso el uso de marcadores específicos de la infección por el VEB. Se ha estudiado mucho el cuadro humoral en la mononucleosis infecciosa y la técnica básica para detectar los niveles de Acs contra los diferentes antígenos virales es la inmunofluorescencia indirecta que utiliza frotis de células linfoides positivas al virus *Epstein-Barr*:

1. P3HR1 (línea productora de virus lítico).
2. Raji (línea infectada de forma latente no productora de virus). También existen ensayos inmunoenzimáticos diseñados para este fin.

Los Acs IgM e IgG contra VCA aparecen de 2 a 3 semanas después del inicio de la infección y alcanzan su pico de 4 a 6 semanas. Los Acs IgM solo se detectan durante la infección primaria aguda para luego desaparecer mientras que los IgG persisten de por vida con niveles variables. Los Acs contra el antígeno EA aparecen también en la infección aguda, pero se pueden detectar tanto en la infección primaria como en las recidivas. Los Acs contra EBNA aparecen de forma tardía y persisten de por vida.

La presencia de IgM e IgG contra VCA unido con la presencia de EA y la ausencia de EBNA es indicativo de mononucleosis infecciosa aguda. La detección de EBNA positivo y la ausencia de IgM contra VCA señala la presencia de infección pasada.

Dentro de los métodos de biología molecular usados para el diagnóstico se encuentran la hibridación de ácidos nucleicos (hibridación *in situ*, *southern blot*, *dot* hibridación) que es muy sensible para detectar ADN del VEB en muestras de pacientes. También se ha empleado la RCP.

EPIDEMIOLOGÍA

El VEB es un miembro de la familia de los herpesvirus que infecta y transforma a los linfocitos B. Está distribuido mundialmente, aunque en determinadas áreas geográficas se presentan cuadros específicos (linfoma de Burkitt, en África y Carcinoma nasofaríngeo, en Asia). La infección afecta fundamentalmente a niños de corta edad sobre todo en países en desarrollo (más del 90 % de los niños se encuentran infectados a la edad de 6 años), en los que la infección suele ser leve o asintomática. La mononucleosis infecciosa típica aparece en los países desarrollados, en donde la edad en que se produce la infección se retrasa hasta afectar a los niños de mayor edad o a los adultos jóvenes. El reservorio es el hombre y la transmisión se produce de persona a persona por la vía orofaríngea, por medio de la saliva. Los niños de corta edad pueden ser infectados por la saliva que esté en las manos de enfermeras u otro personal auxiliar, y en fómites. La transmisión también puede producirse por medio de transfusiones de sangre a receptores susceptibles y se han detectado partículas virales en secreciones cervicales. El período de incubación es de 4 a 6 semanas y la excreción viral por el exudado faríngeo puede persistir durante un año o más. La susceptibilidad es universal y la infección confiere un alto grado de resistencia. Hasta el momento no existe vacuna disponible contra el virus.

TRATAMIENTO

El tratamiento de la mononucleosis es sintomático. El aciclovir ha sido utilizado en algunos casos pues es capaz de reducir la excreción viral en la orofaringe, a pesar de que no

afecta el número de linfocitos B inmortalizados por el virus. No tiene efecto sobre los síntomas de la enfermedad ni ha demostrado beneficios en el tratamiento de linfomas relacionados con el virus en pacientes inmunodeficientes.

HERPES 6

El virus herpes 6 es el sexto miembro de la familia de los herpesvirus humanos y fue aislado por primera vez en el Laboratorio de Robert Gallo en el Instituto Nacional del Cáncer en Bethesda, Maryland, USA, de pacientes con una variedad de trastornos linfoproliferativos herpes 6.

El herpesvirus humano 6 es el sexto miembro de la familia de los herpesvirus humanos fue aislado, por primera vez, en el año 1986, en el laboratorio de Robert Gallo, en el Instituto Nacional del Cáncer en Maryland, USA a partir de linfocitos de sangre periférica de pacientes con una variedad de trastornos linfoproliferativos. El virus aislado era un virus linfotrópico y con características genéticas y antigénicas bien distinguibles que permitían diferenciarlo de todos los herpesvirus aislados hasta ese momento y ubicarlo en la subfamilia *β herpesvirinae*.

PROPIEDADES DEL VIRUS

El VHH6 posee un genoma de ADN de doble cadena, lineal, con una talla de 155-170 kpb y varía entre distintos aislamientos. Estudios más recientes, sin embargo, han revelado que el VHH6 está más estrechamente relacionado al CMV. Se ha demostrado por análisis de la secuencia nucleotídica que existe un 66 % de homología de secuencia con el CMV.

Se ha demostrado mediante técnicas de biología molecular la existencia de dos variantes del virus: la variante A y la B. Ambas se diferencian en cuanto a propiedades biológicas, genéticas y patrones de restricción. La mayoría de los pacientes con exantema súbito y enfermedad febril similar parecen tener la variante B del VHH6. Aislamientos de VHH6 de adultos inmunocomprometidos pueden pertenecer a cualquiera de las dos variantes y al menos en un paciente se han encontrado ambas variantes del virus.

El virus ha sido aislado de células mononucleares de sangre periférica de pacientes con exantema súbito, pacientes inmunocomprometidos e individuos sanos. También ha sido aislado con una alta frecuencia de la saliva de pacientes infectados con el VIH. El virus se replica *in vitro* preferentemente en linfocitos T de origen fetal o de adultos estimulados con fitohemaglutinina. En las células infectadas pueden ser detectadas cápsides virales en el día 3 y los viriones maduros al cabo de 5 días.

PATOGENIA

La principal célula blanco del VHH6 parecen ser los linfocitos CD4+. Los macrófagos son infectados persistentemente y pueden constituir un reservorio importante. Los linfocitos B transformados, las células naturales asesinas, los megacariocitos, células gliales, fibroblastos y células epiteliales son capaces de soportar la replicación de ciertas cepas del virus.

Los aislamientos frecuentes de herpes 6 de saliva sugieren que el virus reside y es eliminado de las glándulas salivares. El ADN viral y los antígenos han sido identificados en las células epiteliales de las glándulas salivares y de diferentes regiones del tracto respiratorio superior.

Hasta el momento se asume que la infección por herpes 6 se transmite por vía horizontal, y no existen evidencias de transmisión vertical. Se ha sugerido que el Herpes 6 puede persistir en monocitos/macrófagos en un estado latente, aunque estos no son un sitio exclusivo primario de latencia *in vivo*.

El mecanismo exacto de reactivación del herpes 6 no está claro todavía. Se ha demostrado, sin embargo, que pueden ocurrir varios tipos de transactivación entre herpes 6 y otros virus incluyendo CMV, EBV, virus sarampión y VIH.

Es un virus linfotrópico que infecta a los individuos susceptibles durante el primer año de vida y, generalmente, causa latencia de por vida. En un tanto por ciento variable, la infección primaria es seguida por una enfermedad aguda de corta duración, el exantema súbito. Los individuos de mayor edad pueden sufrir una enfermedad parecida a la mononucleosis infecciosa o la enfermedad Kikuchi-Fujimoto. Además es capaz de causar un amplio espectro de desórdenes hematopoyéticos, linfoides y autoinmunes los cuales se han asociado con elevados títulos de anticuerpos al virus herpes 6 y de los cuales el virus se ha podido aislar. Estas enfermedades incluyen linfoproliferación policlonal atípica, enfermedad de Hogkin, síndrome de fatiga crónica y Lupus eritematoso sistémico.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

El virus herpes 6 es ubicuo en la población humana. La infección ocurre dentro de los dos primeros años de vida; ocasionalmente resulta en una enfermedad febril aguda con o sin exantema súbito.

Los anticuerpos maternos están presente, generalmente, al nacimiento y declinan en los primeros meses de vida.

La seroconversión tiene lugar en la mayor parte de los casos entre los 6 y 18 meses y los títulos son altos en los adolescentes.

Aislamientos frecuentes de herpes 6 de saliva sugiere que el virus reside y es eliminado de las glándulas salivares. El ADN viral y los antígenos fueron identificados en las células epiteliales de las glándulas salivares y de diferentes regiones del tracto respiratorio superior.

Hasta el momento se asume que la infección por herpes 6 se transmite por vía horizontal y no existen evidencias de transmisión vertical.

La propiedad más significativa de los herpesvirus es su capacidad para producir una infección latente. Durante la fase aguda de la enfermedad, el ADN de herpes 6 ha sido detectado en linfocitos CD4+. Durante la fase convaleciente del exantema súbito de 1,5 a 2,5 meses después del comienzo de la enfermedad el ADN viral está presente en una población de células adherentes (monocitos), pero no en linfocitos. Se ha sugerido que el herpes 6 puede persistir en monocitos/macrófagos en un estado latente, aunque estos no son un sitio exclusivo primario de latencia *in vivo*.

El mecanismo exacto de reactivación del herpes 6 no está claro todavía. La reactivación del virus parece ocurrir de manera espontánea con otros herpesvirus en el 5 y 20 % de la población clínicamente asintomática.

Se ha demostrado, sin embargo, que pueden ocurrir varios tipos de transactivación entre herpes 6 y otros virus incluyendo CMV, EBV, virus sarampión y VIH.

DATOS CLÍNICOS

Una variedad de desórdenes clínicos han sido descrito como que pueden estar asociados con infección por herpes 6. Basados en los conocimientos actuales, los cuales han sido insuficientes, las enfermedades asociadas a la infección por herpes 6 han sido clasificadas en 2 grupos: las enfermedades causadas por la infección por herpes 6 y las enfermedades posiblemente asociadas con herpes 6, pero sin relación etiológica claramente identificada. El primer grupo incluye el exantema súbito y enfermedad febril similar de niños con o sin exantema, mononucleosis infecciosa en ausencia de anticuerpos heterófilos y casos de la enfermedad de Kikuchi-Fujimoto.

El segundo grupo está formado por ciertos desórdenes autoinmunes, el síndrome de fatiga crónica y enfermedades proliferativas linfáticas y hematopoyéticas. Además, se han descrito, casos de hepatitis fulminante y en los pacientes inmunocomprometidos se ha asociado la reactivación del herpes 6 con neumonitis intersticial y retinitis.

Exantema súbito. Es una enfermedad aguda que afecta, fundamentalmente, a niños pequeños y adultos jóvenes y se caracteriza por un período corto de fiebre alta (1-5 días) y la aparición de un rash que coincide con el período de defervescencia, generalmente, se presenta en verano y afecta a ambos sexos por igual. Puede estar acompañado de faringitis y coriza. Existe neutropenia absoluta con linfocitosis de hasta un 90 % y presencia de

células linfoides atípicas con un citoplasma plasmocitoide. El pronóstico es bueno y no requiere tratamiento.

Otras enfermedades febriles. El virus ha sido aislado de niños que presentan una enfermedad febril aguda y otitis y en un tanto por ciento de los casos puede estar presente el rash. Otros síntomas presentes son: malestar, irritabilidad, congestión nasal, diarreas, tos, vómitos. El cuadro es benigno y no dura más de 4 días.

Mononucleosis infecciosa con ausencia de Acs heterófilos. Se presenta de forma frecuente como resultado de reactivaciones de una infección latente por el VHH6. La edad de los pacientes es la misma de los que presentan mononucleosis por el VEB. Se caracteriza por una faringoamigdalitis exudativa o membranosa indistinguible de la mononucleosis clásica. Las adenopatías a diferencia de las de la MI por el VEB, que tienden a resolver en 11 días, pueden estar presentes hasta más de 30 días y estar asociadas con hepatoesplenomegalia, linfadenopatía retroperitoneales y visión borrosa.

Enfermedad de Kikuchi-Fujimoto: Se trata de una linfadenitis histiocítica necrotizante que ha sido reportada recientemente. Los casos reportados proceden de Japón, Europa, Estados Unidos y otras partes de Asia. Los pacientes presentan linfadenopatías en cuello no dolorosas y pueden o no estar acompañadas de dolor de garganta, fiebre, escalofríos y mialgia. La edad de los pacientes oscila entre 10y 60 años, con un predominio en los 20. Otras localizaciones posibles de las adenopatías son axila, región supraclavicular y braquial. Las adenopatías persisten por meses y pueden pasar a una fase de fibrosis crónica. El pronóstico con o sin tratamiento sintomático es bueno.

Receptores de transplante. La reactivación del virus en receptores de transplante puede conducir a una neumonitis intersticial, encefalitis en algunos casos y rechazo.

Síndrome de fatiga crónica. Comienza abruptamente con un síndrome parecido a la influenza acompañado de síntomas respiratorios y/o gastrointestinales, fiebre, mialgia, artralgia, febrícula, odinofagia, debilidad muscular general inexplicable, fatiga excesiva y prolongada postejercicios, síntomas neuropsicológicos, trastornos del sueño, entre otros. Estos se presentan en distintas combinaciones, y debido a la variabilidad entre los individuos, muchas veces el diagnóstico de este síndrome constituye un problema para la mayoría de los médicos.

Síndrome de Sjogren. Es un desorden autoinmune caracterizado por inflamación crónica con infiltración de glándulas exocrinas que puede progresar a un linfoma maligno. La enfermedad puede presentarse en una forma primaria, sin estar asociada a enfermedades del tejido conectivo o en una forma secundaria unido la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico u otras colagenosis. La tríada característica y de gran valor diagnóstico es: queratoconjuntivitis, xerostomía y poliartritis. Cualquier combinación de estos síntomas puede servir para el diagnóstico. Los disturbios inmunológicos consisten en defectos funcionales de las células T, hiperactividad de las células b y deficiencia de las células naturales asesinas. Se pueden detectar una variedad de autoanticuerpos.

Lupus eritematoso sistémico. La etiología de esta enfermedad es desconocida y se considera que una infección viral, la reactividad inmune alterada y la predisposición genética son responsables de la aparición de la enfermedad. A muchos agentes infecciosos, se les ha imputado que pueden ser cofactores en la patogénesis de la enfermedad y los herpesvirus están entre ellos. Estudios serológicos han demostrado altos títulos de Acs contra el VHH6 en los pacientes con lupus eritematoso sistémico. Además se han detectado en muestras de biopsia de piel, linfocitos CD4+/CD38+ infectados con el virus y en cultivos primarios de linfocitos de sangre periférica de estos pacientes se ha detectado el genoma del virus mediante hibridación *in situ*, así como Acs mediante inmunofluorescencia.

VHH6 y SIDA. Numerosos aislamientos del virus se han realizado en pacientes con SIDA. Debido a que ambos virus comparten como célula blanco a los linfocitos CD4+, se sugiere que el VHH6 es un cofactor importante en la progresión hacia el estadio SIDA. Este virus puede ser causa de retinitis en este tipo de pacientes.

Desórdenes linfoproliferativos atípicos. Entre las alteraciones linfoproliferativas relacionadas con la infección por el virus herpes 6 se encuentran: linfoproliferación policlonal atípica, linfoma no Hodgkin, síndrome hemofagocítico, entre otras.

Por último, algunos investigadores reportan el hallazgo de altos títulos de Acs contra el herpes 6 en pacientes con mielodisplasia y síndromes mieloproliferativos crónicos (osteomielifibrosis y leucemia mielógena crónica).

DIAGNÓSTICO

El VHH6 puede ser aislado de pacientes con exantema súbito durante la fase febril de la enfermedad. Las muestras que más se emplean suelen ser monocitos de sangre periférica y la saliva. Estas son inoculadas en células mononucleares del cordón umbilical preestimuladas con fitohemaglutinina. Además, se pueden emplear líneas celulares como las HBS 2, las Sup T1 y las Jurka para la variante A del virus, y las Molt 3 para la variante B. El efecto citopático aparece entre 5 y 9 días después de inoculado el virus y consiste en redondeamiento de las células, aumento de tamaño, fusión con formación de células gigantes multinucleadas y vacuolización.

La presencia del virus puede ser confirmada por microscopia electrónica, inmunofluorescencia y ensayos inmunoenzimáticos para la detección de antígenos, y los métodos de biología molecular como la RCP y la hibridación posibilitan la detección del ADN viral en las muestras y en el cultivo.

El diagnóstico serológico se realiza mediante ELISA e inmunofluorescencia indirecta utilizando células de origen linfoide infectadas por el virus.

EPIDEMIOLOGÍA

El virus herpes 6 es ubicuo en la población humana. Es un virus linfotrópico que infecta a los individuos susceptibles durante los dos primeros años de vida y, generalmente, causa latencia de por vida. En un tanto por ciento variable, la infección primaria es seguida por una enfermedad aguda de corta duración, el exantema súbito (roseóla infantil o “sexta enfermedad”). Los individuos de mayor edad pueden sufrir una enfermedad parecida a la mononucleosis infecciosa o la enfermedad Kikuchi-Fujimoto. Además es capaz de causar un amplio espectro de desórdenes hematopoyéticos, linfoides y autoinmunes los cuales se han asociado con elevados títulos de anticuerpos al virus herpes 6 y de los cuales el virus se ha podido aislar.

Los anticuerpos maternos están presente, generalmente, al nacimiento y declinan en los primeros meses de vida. La seroconversión tiene lugar en la mayor parte de los casos entre los 6 y 18 meses y los títulos son altos en los adolescentes. Títulos elevados de anticuerpos contra herpes 6 se han observado en un número de enfermedades incluyendo personas inmunocomprometidas; esto sugiere que la reactivación de la infección latente, así como la reinfección exógena ocurren con el herpes 6.

Hasta el momento se asume que la infección por herpes 6 se transmite por vía horizontal, a través de secreciones orofaríngeas y no existen evidencias de transmisión vertical.

TRATAMIENTO

La mayoría de las infecciones primarias no requieren tratamiento específico. En caso de presentarse enfermedades relacionadas con receptores de trasplante, hepatitis fulminante, desórdenes hematopoyéticos, autoinmunes, linfoides puede valorarse el uso de algunos antivirales. El virus es sensible al foscarnet, ganciclovir y relativamente resistente al aciclovir.

HERPES 7

Este virus fue aislado por primera vez, en 1990, a partir de células T purificadas de un individuo sano. Posteriormente, se reportó otro aislamiento a partir de células mononucleares de un individuo con el síndrome de fatiga crónica. El VHH7 está estrechamente ligado al VHH6 y al CMV humano, no así al VHS, VVZ y al VEB.

Su morfología y morfogénesis son similares a la del herpes 6. Los viriones son envueltos y tienen un diámetro de aproximadamente 200 nm. El virus ha sido aislado frecuentemente de la saliva, por lo que se ha sugerido que las glándulas salivares pueden ser el sitio primario de replicación viral, así como el reservorio del virus. También ha sido aislado de células mononucleares, fundamentalmente en niños.

Diversos investigadores reportan que el 96 % de los adultos sanos tienen Acs IgG contra el VHH7. También se ha podido comprobar que los niños adquieren Acs contra este virus entre los 9 y 17 años de edad.

Hasta el momento actual no se ha encontrado ninguna enfermedad que sea producida por herpes 7, no obstante se han diagnosticado algunos casos de exantema súbito donde se ha podido aislar este virus, así como en casos de síndrome de fatiga crónica. Se asoció el virus a un caso de un niño con síndrome de mononucleosis infecciosa y pancitopenia, así como con otros casos de hepatitis y síndrome febril. La posibilidad de que el virus herpes 7 es también reactivado en pacientes con transplante de órganos y pacientes SIDA debe ser investigada.

El virus se ha aislado a partir de la saliva de niños y adultos saludables. Crece bien en células mononucleares del cordón umbilical estimuladas con fitohemaglutinina, pero también se puede co-cultivar usando monocitos de sangre periférica. Se prefiere usar el primero de estos métodos, ya que la mayoría de los monocitos de sangre periférica contienen VHH6 por lo que el cultivo puede contaminarse y producir falsos positivos a la hora de identificar un aislamiento por las reacciones cruzadas que existen entre estos virus.

Solamente una línea celular soporta la replicación de este virus (SupT1). Los cambios morfológicos son observados entre 9 y 14 días después de la inoculación y se caracterizan por redondamiento y alargamiento de las células que adquieren un tamaño tres veces mayor de lo normal. El aislamiento puede identificarse mediante inmunofluorescencia empleando Acs monoclonales.

La detección de Acs específicos contra el virus puede realizarse mediante inmunofluorescencia indirecta usando como sustrato una línea celular infectada con VHH7 (SupT1).

En la actualidad se utilizan técnicas de biología molecular como la RCP y la hibridación usando probes específicos para detectar ácido nucleico viral en muestras clínicas y en el cultivo.

HERPES 8

Este es un nuevo miembro de la familia *Herpesviridae*, aislado, por primera vez, en el año 1994, por Chang y colaboradores, quienes reportaron la presencia de secuencias de ADN en lesiones de sarcoma de Kaposi (SK) similares a regiones del genoma del herpesvirus Saimiri y del VEB en pacientes con SK y SIDA. Posteriormente demostraron que estaban presentes en pacientes con SK homosexuales seronegativos al VIH. Estas secuencias también habían sido detectadas en linfomas de células B localizados en la cavidad abdominal.

El VHH8 es un miembro de la subfamilia γ *herpesvirinae* y pertenece al género *Rhadinovirus*. Este virus infecta linfocitos y se asocia a transformación e inmortalización de células. Su genoma tiene una talla de 170 kb.

El papel del herpes 8 en la patogenia del SK se fundamenta en el hallazgo del virus en las células endoteliales de la sangre periférica de pacientes con esta enfermedad. Esto ha sido demostrado mediante estudios de hibridación *in situ*. También se le ha atribuido al VHH8 una posible función en la etiología de cánceres como angiosarcomas e hiperplasia angioliñoide. El ADN del virus se ha encontrado juntamente con el VEB en tumores de células B de la cavidad oral, aunque en algunos casos solo se ha detectado el herpes 8 lo que sugiere, que este agente puede participar en el proceso de transformación. Por último, se plantea que este virus también puede desempeñar algún papel en la enfermedad de Castleman (síndrome linfoproliferativo).

In vivo el VHH8 se replica en células tumorales del SK y en células mononucleares, sin embargo, en el laboratorio, la infectividad del virus ha sido difícil demostrarla. La línea celular BB19 procedente de células endoteliales transformadas con papilomavirus humano y la línea 293 procedente de células epiteliales de riñón humano transformadas con adenovirus son susceptibles a la infección por el VHH8.

La disponibilidad de líneas de células B infectadas con el herpes 8 y no con VEB permite la realización de estudios serológicos en diversas poblaciones. Estos ensayos han revelado una fuerte correlación entre Acs contra herpes 8 y la presencia de SK o de linfoma de células B de la cavidad abdominal. El estudio de la presencia de Acs contra proteínas latentes del virus en líneas celulares infectadas sugiere que la producción de Acs ocurre antes del desarrollo del SK. La detección de secuencias de ADN del virus en células

mononucleares de sangre periférica de individuos infectados, permite predecir el comienzo del SK. El testaje de la presencia de Acs contra la proteína latente, sugiere que entre el 1 y 4 % de la población adulta normal está infectada con VHH8. Todos los pacientes con SK y cerca del 90 % de los homosexuales masculinos infectados con el VIH tienen Acs que reaccionan contra antígenos líticos.

La seropositividad al herpes 8 no es común antes de la pubertad (5 %). Hasta el momento se plantea que el virus se transmite por contacto sexual, sin embargo, la más alta prevalencia encontrada entre homosexuales masculinos y no entre mujeres infectadas con el VIH soporta la teoría de que la relación sexual anal receptiva constituye la principal vía de contagio. Numerosos investigadores reportan la detección del virus en el fluido seminal, mientras que otros no. El virus también ha sido revelado en saliva y secreciones nasales de individuos infectados y esto podría explicar la presencia de la infección por herpes 8 en niños mayores que no tienen el riesgo de adquirir la infección por la vía sexual.

HERPESVIRUS B

Los monos macacos, sufren de una infección con un alfa herpesvirus conocido como virus herpes B, herpesvirus de los simios o herpesvirus Cercopithecino. Aunque la transmisión al hombre es limitada, las infecciones que se producen en estos tienen una alta tasa de mortalidad. La historia natural de la infección es muy similar a la de la infección por el VHS 1. Se han reportado un número de casos de parálisis ascendente y encefalitis en manipuladores de animales, después de la mordedura por un mono. Este virus constituye un riesgo para las personas que trabajan con primates, en zoológicos o en los laboratorios.

RESUMEN

La familia de los herpesvirus está constituida por varios patógenos que son capaces de causar una diversidad de enfermedades en el humano.

Los herpesvirus que con mayor frecuencia infectan al hombre incluyen al virus herpes simple tipo 1 y 2, citomegalovirus, virus *Epstein-Barr*, herpesvirus humanos 6 y 7 y el herpesvirus 8 asociado con el sarcoma de Kaposi. El herpesvirus B de los monos también puede infectar a los humanos. Se conocen aproximadamente 100 herpesvirus que infectan diferentes especies de animales. La latencia es la propiedad más interesante de los miembros de esta familia, y consiste en la capacidad que tienen ellos para persistir en un estado de inactividad aparente por períodos de tiempo variables y desarrollar reactivaciones periódicas espontáneamente o por la acción de estímulos como el estrés psíquico o emocional, la fiebre, exposición a luz ultravioleta, estímulos hormonales, traumatismos, inmunosupresión, exposición a temperaturas extremas, entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta B, Resik S, Suárez C, García S, Pérez L. Estudio de la sensibilidad al aciclovir y al foscarnet de cepas virus herpes simple. IV Conferencia Internacional sobre VIH/SIDA en Cuba, Centroamérica y el Caribe. Cuba (Enero 2000).
- Ashley R, Koelle DM. Immune responses to genital herpes infection. In: Quinn TC, ed. *Advances in Host Defense Mechanisms. Sexually Transmitted Diseases*. Volumen 8. New York: Raven Press, 1992:201-38.
- Balows A, Hausler WJ, Lennette EH. *Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice*. 2 ed. Volumen 2. New York: Springer Verlag Press, 1988.
- Bean B. Antiviral Therapy: Current Concepts and Practices. *Clin Microbiol Rev* 1992; 5(2):146-82.
- Benenson AS. *Control of Communicable Diseases Manual*. 16 ed. Washington: American Public Health Association, 1995:233-36.
- Brow Z, Vontver L, Bendetti J. Effects on infants of first episode of genital herpes during pregnancy. *N Engl J Med* 1987;317:1246.
- Cesarman E, Chang Y, Moore PS, Said JW, Knowles DM. Identification of herpesvirus like sequences in AIDS-associated Kaposi's Sarcoma. *Science* 1994;226:1865-69.
- Conference of Antimicrobial Agents Chemotherapy, New Orleans (October 17-20, 1993).
- Corey L, Adams H, Brown A, Holmes K. Genital herpes simplex virus infections: clinical manifestations, course and complications. *Ann Intern Med* 1983;98:958-72.

- Corey L, Spear PG. Infections with herpes simplex viruses. *N. Engl J Med* 1986; 314:686-91.
- Current Protocols in Molecular Biology. vol. 2. New York: Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, 1989.
- Dulbecco R, Ginsberg HS. In : Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS. eds. Tratado de Microbiología. 3 ed. México: Salvat, 1990.
- Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblast from Burkitt's Lymphoma. *Lancet* 1964;1:702-3.
- Fields BN, Knipe DM, *et al.* eds. Fields Virology. 2 ed. vol. 2. New York: Raven Press, 1990
- Gallin JI, Fauci AS, eds. Advances in Host Defense Mechanism : Sexually Transmitted Diseases. New York: Raven Pres, 1992.
- Garau Alemany J. Infecciones por los virus del herpes simple y de la varicela zóster. En : Farreras Valenti P, Rozman C. eds. Medicina Interna. 13 ed. vol. 2. España: Mosby-Doyma Libros, 1995:2518-20.
- García Rodríguez JA, Pircazo JJ, eds. Microbiología Médica General. vol. 1. España: Mosby-Doyma Libros, 1996.
- Gerhard RF., Klueppelberg U., Hoffmann A. Clinical correlates of infection with Human herpesvirus-6. *In vivo* 1994;8:457-86.
- Grant S, Edmon E, Syme J. Aprospective study of cytomegalovirus infection in pregnancy, Laboratory evidence of congenital infection following maternal primary and reactivated infection. *J Infect* 1994;3:24-31.
- Holmes KK, Mardh PA, Sparling PF, Wiesner PJ, eds. Sexually Transmitted Diseases. 2 ed. New York: Mc Graw Hill, 1990.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Microbiología Médica. 15 ed. México: Manual Moderno, 1997.
- Kourí V, Sybil E, Chang Y, Rodríguez M, Resik S, Suárez C. Detección de anticuerpos contra el VHH8 en diferentes grupos de la población cubana. Avances en Biotecnología Moderna vol. 5 D13 1999.
- Kourí V. Herpesvirus Humanos: Estado Actual. Publicación Docente. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Habana Cub, 1977.
- Kourí V., Resik S., Suárez C., García S. Detección de Herpesvirus en LCR de pacientes con SIDA y Meningoencefalitis mediante RCP múltiple. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 1998;50(3).
- Kumate J, Gutiérrez G, Muñoz O, Santos JI. Manual de Infectología Clínica. 14 ed. México: Méndez Editores, 1994.
- Lennette EH, Lennette DA, Lennette E, eds Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infection. 7 ed. Washington: American Public Health Association, 1995.
- Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET, eds. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. 7 ed. Washington: American Public Health Association, 1995.
- Levy JA. Three new human herpesvirus (HHV6, 7, and 8). *Lancet* 1997;349:558-62.
- Okada K., Ueda K., Kusuhara K., Miyasaki Ch., Tokugawa K. Exanthema subitum and herpesvirus 6 infection: clinical observations in fifty-seven cases. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12:204-8.
- Ory F., Antonaya J., Fernández MV., Echevarría JM., de la Loma A. Comparison of diagnostic criteria for Epstein Barr virus infection in children.
- Ory F., Echevarría JM. Valoración de criterios serológicos para el diagnóstico de mononucleosis infecciosa. *Enf Infec y Microbiol Clin* vol. 7(9):1989.
- Remington JS, Klein JO., eds Infections Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 4 ed. USA: WB Saunders, 1995.
- Resik S, Acosta B, Kourí V, Suárez C, Muné M, Soto Y. Caracterización de cepas de herpes simple sensibles y resistentes a aciclovir, empleando análisis de Restricción. *Avances en Biotecnología Moderna*. 1997; 3.
- Resik S, Kourí V, García S. Estudio de la Respuesta serológica a Herpesvirus en un grupo de pacientes infectados con VIH. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 1992; 44 (3).
- Resik S Kourí V, Suárez C, García S. Evolución de la Respuesta Serológica al VHS y CMV en pacientes infectados con VIH. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 1997;49(2).
- Resik S, Acosta B, Kourí V, Enamorado A, Suárez C. Prevalencia de anticuerpos contra herpes simple, virus *Epstein-Barr* y Citomegalovirus en una población de pacientes hemodializados. *Rev Cub Med Trop* 51(3) 1999.
- Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, eds. Clinical Virology. USA: Churchill Livingstone, 1997.
- Roizman B, Desrosiers RC, Fleckenstein B, López C, Minson AC, Studdert MJ. The family Herpesviridae: an update. *Arch Virol* 1992;123:425-49.
- Roizman B, Whitley RJ, López C, eds. The human herpesvirus. New York :Raven Press, 1993:367-79.
- Said J, Chien K, Takeuchi S, Tasaka T, Asou H, Cho S, Cesarman E. Kaposi's Sarcoma. associated Herpesvirus in primary efusión Lynfoma: Ultrastructural demonstration of herpesvirus in lynfoma cells. *Blood* vol. 87 12 1996:4937-43.
- Simmons A, Demmrich Y, La Vista A., Smith K. Replication of human herpesvirus 6 in epithelial cells in vitro. *J Infect Dis* 1992;166:202-5.
- Sixbey JW, Lemon SM, Pagano JS. A second site for *Epstein-Barr* virus shedding : The uterine cervix. *Lancet* 1996;2:1122-24.
- Wahren B, Linde A. Virological and clinical characteristic of human herpesvirus 6. *Scand J Infect* 1991;78:105-9.



Poxvirus

Carlos Manuel Suárez Morán

CLASIFICACIÓN

Tres características fundamentales distinguen a los miembros de la familia *Poxviridae*. La primera de ellas es que sus viriones son grandes y complejos, y las enzimas involucradas en la síntesis de los ácidos ribonucleicos mensajeros (ARNm) están contenidas en su estructura. La segunda característica es que los poxvirus poseen un genoma compuesto por una sola molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN) lineal de doble cadena de 130 a 300 kilo-pares de bases (kpb). La tercera es que la replicación de los miembros de esta familia tiene lugar en el compartimiento citoplasmático de la célula.

Existen dos subfamilias en *Poxviridae*. La inclusión en una u otra subfamilia obedece a la capacidad de cada virus de infectar hospederos insectos (subfamilia *Entomopoxvirinae*) o vertebrados (subfamilia *Chordopoxvirinae*). Además, la mayoría de los poxvirus de vertebrados muestran reacciones serológicas cruzadas para al menos el antígeno específico de grupo, la nucleoproteína (NP), y por reactivación no genética pueden recuperar la infectividad de otros poxvirus inactivados por calor. Nuestro interés es ofrecer una visión general de los poxvirus que infectan hospederos vertebrados, con énfasis particular en aquellos de importancia médica.

La subfamilia *Chordopoxvirinae* comprende ocho géneros: *Orthopoxvirus* (los ortopoxvirus), *Parapoxvirus* (los parapoxvirus), *Avipoxvirus* (los poxvirus aviares), *Capripoxvirus* (los poxvirus de cabras y especies relacionadas), *Leporipoxvirus* (virus del mixoma y virus del fibroma, ambos de conejos), *Suipoxvirus* (poxvirus porcino), *Molluscipoxvirus* (virus del molusco contagioso) y *Yatapoxvirus* (virus tanapox y Yaba). Los miembros de un género están relacionados antigénicamente entre sí, y tienen morfología y gama de hospederos similares.

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

Los poxvirus son los más grandes de todos los virus animales, hasta el punto de que pueden verse como partículas lisas al microscopio óptico.

Al microscopio electrónico se observan como partículas en forma de ladrillo, de 220 a 450 nanómetros (nm) de largo, 140 a 160 nm de ancho y 140 a 260 nm de espesor, o, en el caso particular de los *Parapoxvirus*, como partículas de forma ovoide, con 250 a 300 nm de largo y 160 a 190 nm de ancho. La superficie externa presenta crestas que pueden estar organizadas en hileras paralelas o como una hélice continua única.

- En las secciones finas de viriones se pueden observar, desde dentro hacia fuera.
1. Un núcleo viral bicóncavo con.
 2. Dos cuerpos laterales de función desconocida —los cuales se localizan en las concavidades del núcleo viral.
 3. Una membrana externa de lipoproteína.
 4. Una envoltura viral lipoproteica, que se encuentra presente en los virus liberados de las células por gemación, pero no en los virus intracelulares (Fig. 62.1).

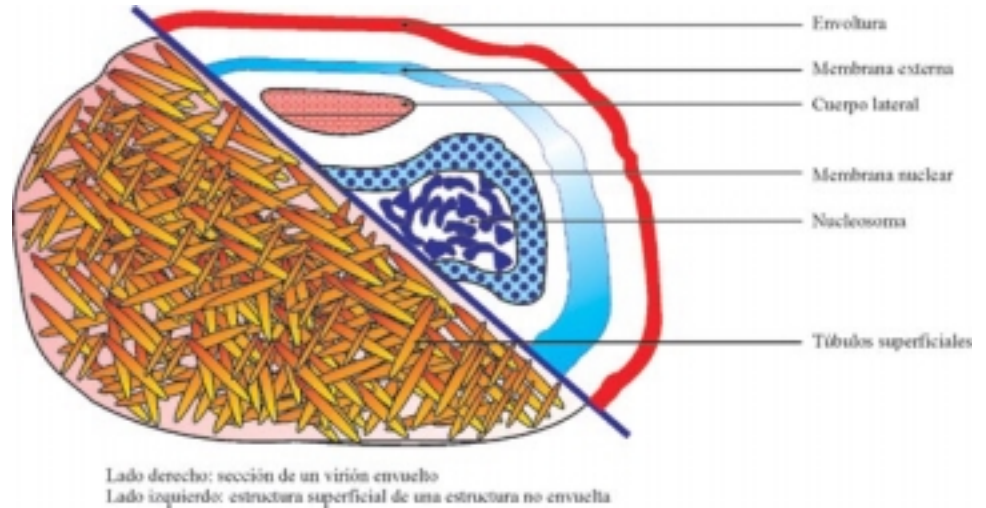


Fig. 62.1 Morfología y estructura de un virión de poxvirus.

Los componentes mayoritarios del virión son las proteínas (aproximadamente 90 %), los lípidos (aproximadamente 5 %) y el ADN (aproximadamente 3 %), que pueden estar presentes en cantidades variables en los diferentes miembros de cada género. La composición química de los poxvirus es similar a la de las bacterias.

Los poxvirus contienen más de un centenar de polipéptidos diferentes en su arquitectura. La mayoría de las proteínas son comunes a todos los miembros de un género, aunque cada especie se distingue por determinados polipéptidos específicos, mientras que otros polipéptidos parecen ser compartidos por todos los poxvirus de vertebrados.

En la envoltura, estructura única de los viriones extracelulares, puede haber más de ocho polipéptidos, de los cuales siete son glicosilados, incluida una hemaglutinina. Sin embargo, la proteína principal de la envoltura no está glicosilada.

Se ha definido que las crestas de la membrana de los poxvirus están formadas por túbulos superficiales de una proteína susceptible de activación proteolítica y capaz de generar anticuerpos neutralizantes de la infectividad y de la fusión entre células. Además, una proteína externa a la membrana, organizada como trimeros, puede ser responsable de la penetración por medio de fusión celular. Esta proteína también induce la formación de anticuerpos neutralizantes. Se considera que al menos seis proteínas están expuestas superficialmente en la membrana, en tanto que otras dos se encuentran en su interior.

El núcleo viral se encuentra compuesto por una fracción soluble de enzimas y una fracción insoluble de proteínas netamente estructurales; es decir, que no poseen actividad enzimática. Cuatro proteínas constituyen 70 % del peso del núcleo viral. Dos proteínas forman parte de la NP, debido a que establecen fuertes enlaces con el ADN y lo mantienen en una forma plegada y superenrollada.

En el ciclo de vida de los poxvirus participa una gran cantidad de enzimas diversas. Un sistema transcripcional, cuyos enzimas y factores forman parte del virión, está encargado de la síntesis de los ARNm y del procesamiento de estos para dar lugar a sus formas maduras con caperuza en el extremo 5', cola de poliadenina en el extremo 3' y patrón de metilación interna. Los poxvirus, juntamente con el virus de la fiebre porcina africana, son los únicos virus, de entre los que poseen genoma de ADN e infectan células eucariotas, con una polimerasa de ARN propia, enzima dependiente de un molde de ADN y que es más similar a las de células eucariotas que a las de células procariotas. Los poxvirus tienen también la propiedad única, comparados con el resto de los virus de células eucariotas, de codificar para una topoisomerasa, enzima que participa en la replicación del ADN.

Existe una considerable variación en la talla del genoma de los poxvirus, desde los 130 kpb en *Parapoxvirus* hasta los 300 kpb en *Avipoxvirus*. El contenido de G+C los diferencia igualmente. El genoma de los poxvirus es escaso en G+C (30 a 40 %), pero puede llegar a un 63 % en *Parapoxvirus*.

Los extremos genómicos tienen forma de lazos de horquilla, son ricos en A+T y contienen secuencias repetidas invertidas (SRI) no conservadas. La longitud de las SRI varía incluso entre los miembros de un mismo género.

El genoma del virus de la vacuna ha sido secuenciado en su totalidad. Los genes esenciales se localizan mayormente en la porción central del genoma, altamente conservada entre los poxvirus, mientras que aquellos que no son esenciales para la replicación en cultivo de tejidos y los involucrados en la gama de hospederos, se hallan en sus extremos. En el genoma del virus de la vacuna, de 186 kpb, puede haber alrededor de 150 a 200 genes. Aunque ambas cadenas del ADN son transcritas, existe escaso solapamiento de genes. Los genes tempranos y tardíos se organizan en grupos, si bien existe cierto grado de dispersión.

REPLICACIÓN DE LOS POXVIRUS

Los eventos principales del ciclo replicativo de los poxvirus (Fig. 62.2) son:

1. Entrada del virus a las células susceptibles.
2. Expresión genética regulada.
3. Replicación del ADN.
4. Ensambladura del virión.
5. Salida y diseminación del virus.

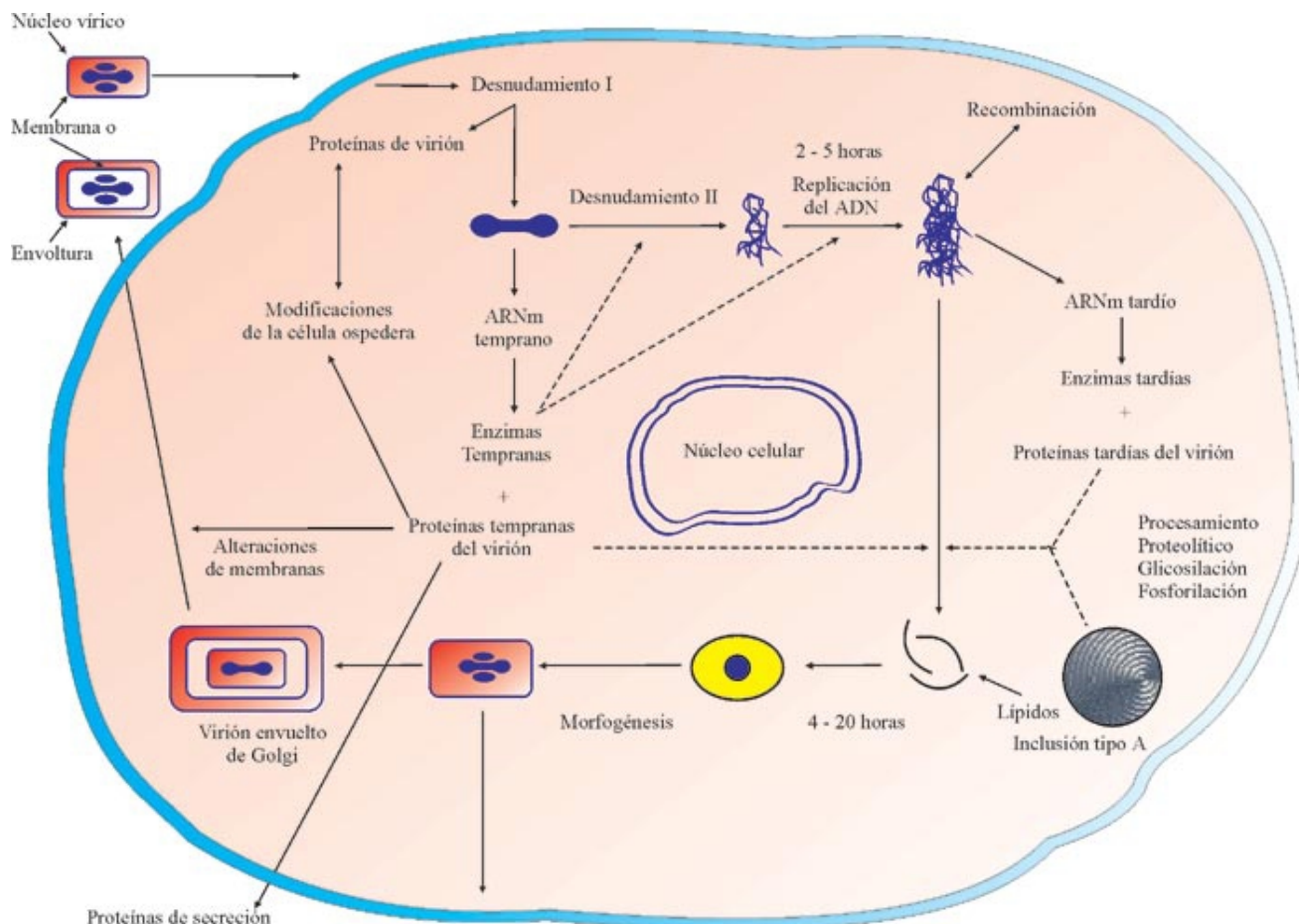


Fig. 62.2 Ciclo de vida de un poxvirus.

ADHESIÓN, PENETRACIÓN Y DESENSAMBLADURA DEL VIRUS

Los poxvirus pueden entrar a sus células susceptibles por dos mecanismos, uno independiente y otro dependiente de pH. El mecanismo independiente de pH explica el hallazgo de que la entrada de los viriones se produce por fusión al nivel de la membrana plasmática en la superficie celular. Mientras que, el mecanismo dependiente de pH se basa en la observación de que la fusión tiene lugar también en vacuolas derivadas de la membrana plasmática, a pH endosomal bajo.

El conocimiento de las proteínas involucradas en los eventos de fusión celular y penetración, ha emergido de estudios de neutralización del virus de la vacuna por anticuerpos. Tres proteínas, entre ellas un componente de los túbulos superficiales de la membrana de los virus intracelulares, desempeñan esta función.

El receptor del virus de la vacuna puede ser el receptor para el factor de crecimiento epidérmico (FCE). Sin embargo, otros receptores parecen también ser usados por este virus, debido a su capacidad de infectar células carentes del receptor para el FCE y a la incapacidad del FCE unido a su receptor de bloquear completamente la infectividad.

La forma extracelular del virus de la vacuna tiene mayor facilidad y eficiencia que la forma intracelular para adsorberse a sus células susceptibles y los anticuerpos contra esta última no neutralizan al virus intracelular. Probablemente, las formas extracelular e intracelular de poxvirus utilicen, complementos, diferentes de proteínas para su entrada.

Después de su liberación en el citoplasma, los núcleos víricos son desensamblados en dos pasos sucesivos. El primero de ellos está mediado por proteínas del virión y permite el acceso de la polimerasa viral de ARN a su molde de ADN, para que la síntesis de las proteínas tempranas tenga lugar. Una o varias de estas proteínas tempranas, en un segundo paso de desensambladura, determinan que el complejo de NP pase a través de aberturas en la pared nuclear.

EVENTOS TRANSCRIPCIONALES

Los primeros ARNm maduros pueden ser detectados a los pocos minutos de haber ocurrido la infección. La frontera entre la síntesis de proteínas tempranas y tardías es el proceso de replicación del ADN. De hecho, tomando este proceso como punto de referencia, existen tres clases temporalmente definidas de ARNm: los tempranos, los de síntesis intermedia y los tardíos.

Aproximadamente 50 % del genoma es transcrito antes de que se produzca la replicación del ADN. Como las enzimas requeridas para la transcripción temprana, y entre ellas la polimerasa de ARN, están asociadas con el núcleo vírico, los inhibidores de la síntesis de proteínas o de la replicación del ADN no afectan la síntesis de los ARNm tempranos. Las proteínas que se traducen a partir de estos ARNm son mayormente enzimas que desempeñan su función durante el segundo proceso de desensambladura del núcleo vírico y la replicación del ADN, así como proteínas que intervienen en la transcripción intermedia y en las interacciones de los poxvirus con sus células hospederas.

Los genes intermedios constituyen una clase de genes tardíos que son transcritos inmediatamente y solo después de la replicación del ADN, porque en este momento el material genético se encuentra desprovisto de proteínas que hacen difícil el acceso de la maquinaria transcripcional. Los ARNm derivados de los genes intermedios hasta ahora identificados, se traducen en proteínas cuya función es mayormente la regulación de la síntesis de las proteínas tardías.

La transcripción tardía tiene lugar más tarde que la transcripción intermedia, o sea, tarde después de la replicación del ADN. Las proteínas sintetizadas tardíamente incluyen la mayoría de las proteínas estructurales y las enzimas del virus, entre estas últimas las enzimas que participan en su ensambladura, y los factores necesarios para que la progenie viral lleve a cabo la transcripción temprana al diseminarse hacia nuevas células susceptibles.

Como se ha puesto de manifiesto, los eventos transcripcionales están eficientemente regulados. La regulación de la transcripción depende tanto de segmentos de secuencia en el

ADN de los poxvirus, como de proteínas específicas. Las secuencias que no codifican para proteínas y que en cambio regulan la transcripción se denominan promotores y las proteínas que participan en la regulación de la transcripción se conocen como factores de transcripción. Los factores de transcripción se unen a sus correspondientes promotores para asegurar que se produzca la transcripción. Existen promotores y factores de transcripción que solo funcionan durante la transcripción temprana, del mismo modo que hay promotores y factores de transcripción que solo lo hacen durante la transcripción intermedia o durante la transcripción tardía.

Los poxvirus de la subfamilia *Chordopoxvirinae*, inactivados por métodos que no destruyen el ADN viral —como el tratamiento con calor—, pueden ser reactivados por cualquier miembro activo de la misma subfamilia. Esencialmente, la reactivación no genética es un ejemplo de complementación. El calor destruye la polimerasa de ARN del virus y, por tanto, bloquea su replicación justamente después del primer paso de desensambladura. Un virus viable, al infectar la misma célula que el virus inactivado, le proporciona a este último una polimerasa funcional de ARN. El virus inactivado, por su parte, aporta el material genético para que se expresen sus enzimas tempranas, cese el bloqueo en la replicación y se genere una progenie infecciosa de virus reactivados.

REPLICACIÓN Y RECOMBINACIÓN DEL ADN

Los poxvirus son solo igualados por el virus de la fiebre porcina africana en la suficiencia para replicar su material genético en el citoplasma. La capacidad de replicación citoplasmática está asegurada por la expresión temprana de la polimerasa de ADN y de otras enzimas necesarias. Se ha observado que la replicación transcurre en áreas discretas de citoplasma llamadas fábricas o viroplasma. El comienzo de la replicación se produce de 1,5 a 6 h después de la infección y se generan aproximadamente 10 000 copias de genoma.

La replicación comienza en ambos extremos del ADN viral, donde se introducen cortes de simple cadena, y procede a través de un mecanismo mediante el cual la cadena no cortada sirve de molde para la generación de la cadena complementaria. Una hipótesis sugiere que los extremos en forma de lazos de horquilla del genoma poxviral pudieran servir de cebadores para el proceso de replicación.

Como los poxvirus no poseen un origen de replicación definido, las copias del genoma se sintetizan de forma continua, para ser posteriormente separadas en unidades independientes.

En células infectadas simultáneamente por dos poxvirus, es mucho más frecuente la recombinación entre miembros de un mismo género que entre miembros de géneros diferentes. En la recombinación no intervienen productos génicos tardíos y parece existir una relación estrecha entre los procesos de replicación y recombinación.

ENSAMBLADURA, MADURACIÓN Y LIBERACIÓN DE LOS POXVIRUS

Las primeras estructuras morfológicamente distinguibles de los virus intracelulares consisten de una doble membrana curva con un borde en cepillo de espículas en la parte convexa y material granular adyacente a la parte cóncava. Si bien no se ha descartado que esta doble membrana sea sintetizada de *novo* durante la replicación viral, nuevas evidencias basadas en la microscopía electrónica apuntan hacia un origen a partir de cisternas del compartimiento de continuidad entre el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi.

En la fase subsiguiente del desarrollo, las envolturas virales inmaduras tienen apariencia circular con una masa densa de NP embebida en una matriz granular. La NP entra a las envolturas inmaduras antes de que estas sean selladas. Muchas proteínas virales deben ser transportadas desde su sitio de síntesis hasta el sitio de ensambladura. Los procesos morfológicos adicionales, que involucran la organización compleja de los componentes internos y externos de la partícula viral, requieren de una continua síntesis de proteínas. Varios polipéptidos tardíos, que incluyen algunas de las proteínas del núcleo viral, pasan por procesamientos proteolíticos durante la ensambladura del virus. Los virus intracelulares maduros se liberan por lisis de las células infectadas.

En el caso de algunos miembros de la subfamilia *Chordopoxvirinae*, las partículas intracelulares maduras quedan atrapadas en una matriz proteica densa en el citoplasma. Esta se ha llamado inclusión de tipo-A para diferenciarla de la inclusión de tipo-B, que representa un sitio de replicación y ensambladura. Homólogos de la proteína viral tardía que forma la inclusión de tipo-A pueden ser expresados por poxvirus que no desarrollan estas inclusiones. Probablemente, las inclusiones de tipo-A son liberadas al ambiente después de la degeneración de las células infectadas.

Las partículas virales maduras pueden moverse desde el sitio de ensambladura hasta la periferia celular y resultar envueltas en membranas adicionales, pertenecientes al aparato de Golgi o a la red endosomal temprana, las cuales contienen las proteínas virales destinadas a formar parte de los viriones extracelulares envueltos. Las partículas ya envueltas son entonces transportadas a lo largo de microfilamentos citoplasmáticos hacia la superficie celular, donde se produce la fusión de la membrana viral externa con la membrana plasmática. Los viriones salen a los espacios extracelulares con pérdida de una membrana derivada de Golgi. Solo una porción de los virus así liberados se encuentra en el medio como viriones extracelulares envueltos, mientras que el resto se mantiene adherido a la membrana plasmática, por lo que recibe el nombre de viriones envueltos asociados a células. *In vitro*, los virus extracelulares son importantes para la diseminación viral en gran escala, en tanto que los asociados a células, para la diseminación de célula a célula.

INTERACCIONES VIRUS-CÉLULA

Efectos inhibitorios sobre la síntesis de proteínas

La infección de cultivos celulares con el virus de la vacuna u otros miembros del género *Orthopoxvirus* se manifiesta en efectos citopáticos (ECP) severos, tales como cambios en la permeabilidad de las membranas celulares y la inhibición de la síntesis de ADN, ARN y proteínas.

Los efectos sobre la síntesis de proteínas son dramáticos. La inhibición de la síntesis de proteínas de las células hospederas ocurre en ausencia de expresión génica viral, indicación de que una o varias proteínas contenidas en la partícula viral infectante son responsables. Esta inhibición puede ocurrir al nivel de la iniciación o de la elongación de las cadenas polipeptídicas.

Sin embargo, un mecanismo alternativo propone que varias proteínas tempranas pudieran asegurar la traducción de las proteínas virales en condiciones en las cuales se mantiene inhibida la síntesis de las proteínas del hospedero. La inhibición de la síntesis proteica por estas proteínas de la fase temprana, tendría lugar hasta un punto en que las proteínas virales pudieran ser traducidas, pero no las proteínas de las células hospederas.

EFFECTOS INHIBITORIOS SOBRE LA SÍNTESIS DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS DEL HOSPEDERO

Se han demostrado efectos inhibitorios sobre la síntesis y el procesamiento de los ARN celulares. Esta inhibición afecta a todas las clases de ARN, requiere de la síntesis de proteínas virales y puede ser explicada, en parte, por la pérdida de la actividad de la polimerasa II de ARN en el núcleo celular. La replicación del ADN celular es también inhibida.

EFFECTOS ESTIMULANTES SOBRE EL CRECIMIENTO CELULAR

Muchos poxvirus inducen respuestas hiperplásicas y hasta la formación de tumores en la piel de los animales infectados. Estos efectos son más pronunciados con los virus Yaba y del molusco contagioso. La hiperplasia puede ser explicada a través de la secreción de factores de crecimiento codificados por poxvirus. El virus de la vacuna codifica para una

proteína de secreción llamada FCV, que es análoga al FCE y al factor α transformante del crecimiento. El FCV es sintetizado tempranamente después de la infección y se une al receptor del FCE, iniciando así una cascada de transducción de señales intracelulares que tiene como resultado final un incremento de la proliferación celular.

PROTECCIÓN CONTRA LOS MECANISMOS DE DEFENSA DEL HOSPEDERO

El control de una infección viral es una competencia entre el sistema inmune y el virus que la causa. Los mecanismos de defensa inmunitaria del hospedero deben detener la diseminación del virus y asegurar la eliminación de estos, primeramente a través de los mecanismos no específicos, que incluyen los interferones, el complemento y las células asesinas naturales, luego, mediante los mecanismos específicos basados en anticuerpos y células T citotóxicas.

Los poxvirus, sin embargo, han desarrollado estrategias para evadir la acción del sistema inmune. Las proteínas que intervienen en los mecanismos de evasión de la respuesta inmune pueden ser clasificadas como:

1. Imitaciones de ligandos del hospedero (viroquinas).
2. Homólogos de receptores celulares de citocinas (viroceptores).
3. Proteínas inhibidoras de la actividad de citoquinas.

El virus de la vacuna, por ejemplo, codifica para una viroquina que le confiere resistencia al interferón y que tiene, por añadidura, la capacidad de impedir la acción del interferón sobre otros virus más sensibles, tales como el virus de la estomatitis vesicular y el virus de la encefalomiocarditis.

Otra de las viroquinas del virus de la vacuna inhibe la vía clásica y la alternativa del complemento.

Entre los viroceptores se encuentran las contrapartidas virales para el receptor de la interleuquina 1 (IL-1) y el receptor del factor de necrosis tumoral (FNT) y los inhibidores de la actividad de diferentes citoquinas.

VECTORES DE EXPRESIÓN

Una variedad de genes foráneos puede ser insertada en el genoma poxviral por recombinación homóloga y expresada en este sistema. Los vectores de poxvirus han sido usados para estudios inmunológicos y como vacunas vivas recombinantes potenciales para uso humano y veterinario.

INFECCIONES HUMANAS POR POXVIRUS

Nueve poxvirus diferentes causan enfermedades en humanos. Hasta su erradicación en 1977, el más importante de estos patógenos fue el virus de la viruela. Otros tres miembros del género *Orthopoxvirus* causan infecciones humanas: el virus de la vacuna, el virus de la viruela del mono y el virus de la viruela bovina. Entre estos, el virus de la vacuna es un virus de laboratorio, que ha sido ampliamente usado para inmunizar a los humanos contra la viruela y en estas condiciones produce una lesión cutánea localizada y raramente complicaciones más serias. El virus de la viruela del mono, por su parte, causa naturalmente una enfermedad en animales salvajes de África occidental y central, pero también puede provocar una enfermedad exantemática clínicamente muy similar a la viruela humana, escasamente transmisible de persona a persona. Por último, el virus de la viruela bovina es probablemente un virus de roedores, cuya adquisición por los humanos es el resultado del contacto con estos roedores, o con gatos o vacas, que al igual que los humanos pueden ser hospederos accidentales del virus.

Entre los virus pertenecientes a *Parapoxvirus*, el virus orf causa lesiones cutáneas en ovejas y cabras, transmisibles a humanos, y los nódulos de los ordeñadores son producidos por el virus llamado de la pseudoviruela bovina o de la pseudovacuna. Las tetillas de las vacas

infectadas son la fuente de la infección humana. Otros dos virus africanos, el virus Yaba y el virus tanapox, incluidos en el género *Yatapoxvirus*, son los agentes etiológicos de una o múltiples lesiones cutáneas en humanos. El virus del molusco contagioso, del género *Molluscipoxvirus*, tiene como rasgos peculiares su ubicuidad y su capacidad de causar una enfermedad exclusivamente humana.

INFECCIONES POR *ORTHOPOXVIRUS*

Viruela

Perspectiva histórica de la viruela en el mundo: su control y erradicación

Enfermedad específica de individuos humanos, la viruela fue originalmente descrita por las civilizaciones antiguas, pasó al Nuevo Mundo a través de la colonización y hoy constituye la primera y única enfermedad infecciosa erradicada de la faz del planeta.

Durante siglos, el control de la viruela se llevó a cabo por un procedimiento empírico llamado inoculación o variolación, que consistía en la insuflación o en la inoculación cutánea deliberada de material de costras desecadas. Si el virus de la viruela se encontraba viable en este material, se producía entonces una variante leve de la enfermedad. Sin embargo, los contactos de estos casos de viruela inoculada, a menudo sufrían la enfermedad severa o incluso fatal. A pesar de esta desventaja, la variolación redujo la tasa de mortalidad por viruela, de 20 a 30 % durante las grandes y terribles epidemias, hasta un 0,5 y un 2 %.

El médico inglés Edward Jenner, basándose en la observación de que las personas que habían padecido la viruela bovina eran inmunes a la viruela, introdujo en 1798 un procedimiento original de inmunización profiláctica con el primero de estos virus: la vacunación. Muchos países del mundo lo usaron con resultados impresionantes de declinación de la incidencia de la viruela.

La idea de la erradicación de esta enfermedad fue propuesta a la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1958, pero tuvo que esperar durante nueve años para que un programa de erradicación fuese puesto en marcha. Diez años transcurrieron desde la implementación del Programa Intensificado de Erradicación de la Viruela hasta el último caso en Somalia. En 1980, se producía un momento trascendental para la historia de la medicina cuando la viruela fue declarada oficialmente erradicada.

La clave del éxito alcanzado fue el empleo de una vacuna de fácil administración, potente y muy estable. Como la inmunización en masa por sí sola no podría haber logrado eliminar la enfermedad de los países densamente poblados de las zonas tropicales, por el hecho de que era imposible alcanzar el nivel de cobertura de inmunización extremadamente alto requerido, la estrategia efectiva consistió en combinar la inmunización con la vigilancia y la contención, lo que implicó la búsqueda activa de los casos, su aislamiento y la inmunización de todos los contactos, primeramente los intradomiciliarios y luego los que se encontraban más alejados del caso índice.

Entre 1979 y 1984, la OMS demostró que 173 posibles casos de viruela eran en realidad casos de varicela y en menor medida de otras enfermedades eruptivas. Esto confirmó la ausencia de transmisión de la viruela salvaje en todo el mundo. Por la considerable importancia de todo caso sospechoso de viruela para la salud pública, se toman como conductas de urgencia su evaluación clínica y la realización de los correspondientes exámenes de laboratorio.

La infección de una persona susceptible por un virus de la viruela mantenido en almacenamiento es considerada como la única fuente posible de casos de viruela y, por eso, existe la preocupación del riesgo de infección accidental en laboratorios y de su diseminación subsiguiente a la comunidad. Para reducir al mínimo este riesgo, solo dos centros colaboradores de la OMS, uno en Atlanta (Estados Unidos), y el otro en Moscú (Rusia), responsabilizados con el diagnóstico y la investigación sobre el virus variólico y los poxvirus relacionados, están autorizados a conservar aún reservas de este virus. Sin embargo, se ha especulado sobre la posibilidad de que ámpulas que contengan el virus de la viruela hayan

quedado abandonadas en congelación en algún otro laboratorio y puedan ser potencialmente usadas como armas biológicas en intentos bioterroristas.

En mayo de 1999, un grupo de dieciséis expertos de la OMS acordó diferir la destrucción de las reservas del virus de la viruela por un período no mayor de tres años. El objetivo de esta decisión es la investigación en las siguientes áreas de prioridad:

1. Información sobre secuencias de ADN de las diferentes cepas del virus variólico.
2. Pruebas de diagnóstico rápido.
3. Drogas antivirales para el tratamiento de la viruela y las complicaciones de la vacunación con el virus vacunal.
4. Globulinas hiperinmunes y anticuerpos neutralizantes.
5. Vacunas de nueva generación.
6. Modelos animales.

Patogenia y patología de la viruela

La patogenia de la viruela pudo ser estudiada de tres modos:

1. Por el uso de muestras obtenidas de pacientes, que tiene la ventaja de aportar información relevante, pero la desventaja de que los experimentos planeados no son posibles.
2. Por la infección experimental de primates no humanos por el virus de la viruela.
3. Por estudios en sistemas animales tales como el virus electromelia (viruela murina) en ratones, el virus de la viruela del conejo en conejos y el virus de la viruela del mono en monos.

La infección por el virus variólico se producía por vía respiratoria, por inoculación accidental o deliberada de la piel (variolación) o, raramente, por vía conjuntival o placentaria (Fig. 62.3).

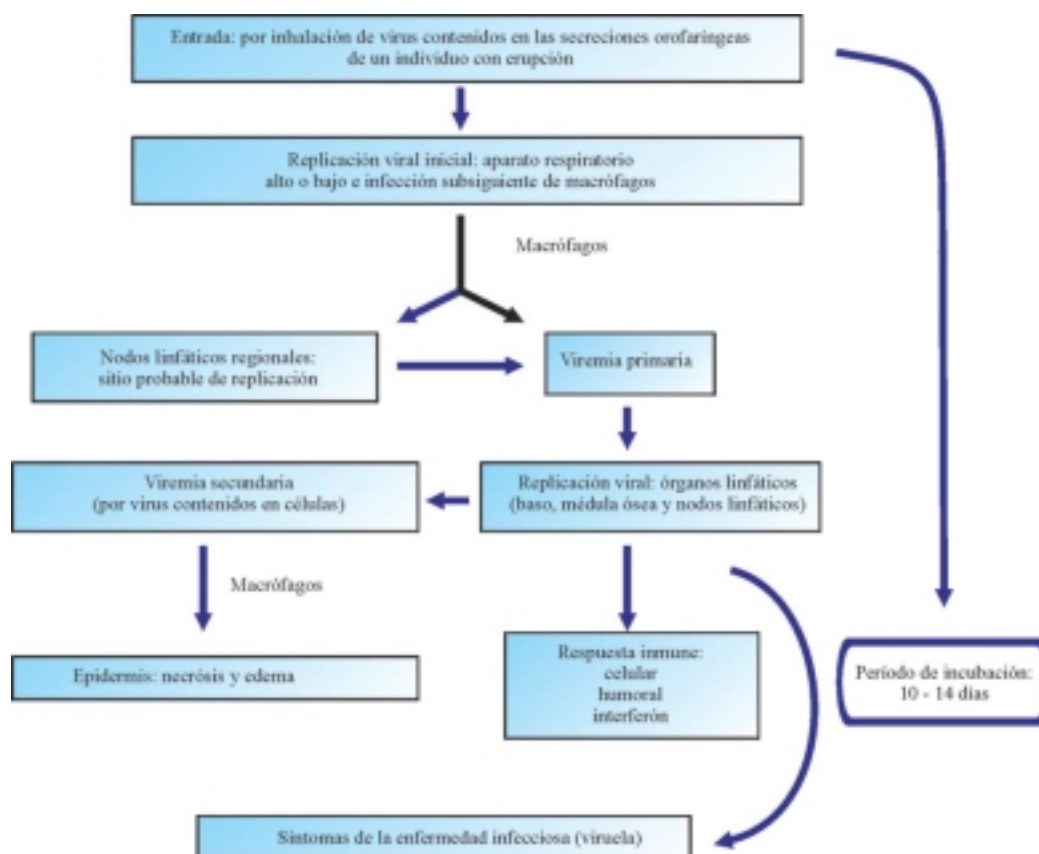


Fig. 62.3 Eventos de la patogenia de la infección por el virus de la viruela humana.

La puerta usual de entrada del virus era el aparato respiratorio. Por eso, las excreciones nasales y faríngeas de un individuo enfermo, más que el material de las costras, eran la fuente más importante de virus infecciosos. Las primeras células que resultaban infectadas eran las de la mucosa del tracto respiratorio alto y bajo, y los macrófagos alveolares. Al tercer día de la infección, los macrófagos infectados se encontraban en los nodos linfáticos que drenaban el sitio de entrada. Ellos también se podían encontrar en la sangre en este día o en el cuarto día posterior a la multiplicación vírica primaria en los nodos linfáticos.

La infección inicial de la orofaringe o el tracto respiratorio era silente y no producía síntomas ni una lesión local reconocible, clínicamente, o por autopsia en los pacientes que morían tempranamente. Los pacientes no eran infecciosos durante el período de incubación.

La viremia transitoria conducía a la infección de los órganos linfoides secundarios —bazo, médula ósea y nodos linfáticos—, donde el virus se multiplicaba secundariamente. Entonces ocurría una viremia secundaria más intensa, asociada a células, específicamente a los macrófagos. Las células cercanas a la capa de células basales de la epidermis resultaban infectadas por los virus contenidos en estos macrófagos, seguían la necrosis y el edema, con separación de las células epiteliales, la infiltración linfocitaria alrededor de los capilares y la formación de una vesícula por degeneración celular. Este era el comienzo de la enfermedad clínica. Luego, la pustulación ocurría por la migración de leucocitos polimorfonucleares al lumen vesicular. En ocasiones, se producía infección secundaria bacteriana, usualmente por estafilococos, que podía tener como consecuencia una bacteriemia o una septicemia.

El examen histológico de la piel mostró que el cambio patológico más temprano en la viruela era la dilatación de los capilares en las papilas del corium, con la hinchazón del endotelio de las paredes de estos vasos y, subsiguientemente, la infiltración perivascular con linfocitos e histiocitos. Los cambios comenzaban a afectar después la capa subyacente. Las células del estrato de Malpighii proliferaban, lo que, juntamente con la hinchazón de estas células, originaba el engrosamiento de la capa epitelial. La degeneración se diseminaba por la capa media de la epidermis, aparecía el edema intercelular, se rompían las membranas celulares y se formaba una vesícula con septos, porque algunas células quedaban incompletamente destruidas. Los leucocitos polimorfonucleares entraban a la vesícula desde la dermis y producían una pústula con células epiteliales que proliferaban a ambos lados, mientras que el fluido se absorbía de la pústula y esta se secaba para dar lugar a una costra. Las marcas dejadas en la piel por la viruela, mucho más severas en el rostro, eran causadas por la destrucción de glándulas sebáceas, y la reorganización y reducción del tejido de granulación.

Concomitantemente con las lesiones cutáneas se desarrollaban otras lesiones en las membranas mucosas de la boca, la lengua, la faringe, la laringe y la parte superior del esófago. Estas lesiones aportaban gran cantidad de virus infecciosos a las secreciones orofaríngeas, poco después de la manifestación de la erupción.

Podían ocurrir pequeñas hemorragias en el corazón y el hígado, y las células endoteliales a lo largo del cuerpo mostraban a menudo hiperplasia y cambios degenerativos. En la viruela hemorrágica, las hemorragias eran extensivas, se producían bajo la serosa en el pericardio, la pleura y el peritoneo, en los pulmones, los riñones, el hígado, la vejiga, el útero y ocasionalmente en la médula ósea.

Los miembros de *Orthopoxvirus* producen, tempranamente durante las lesiones en piel y membranas mucosas, inclusiones citoplasmáticas características. Los cuerpos de Guarnieri o inclusiones de tipo-B son revelados mediante la tinción con hematoxilina y eosina, tienen apariencia redondeada u oval y son ligeramente basofílicos o acidofílicos. En lesiones más avanzadas, se observan inclusiones acidofílicas granulares, que ocupan gran parte de las células infectadas y que pueden ser vistas en las células epiteliales de la base de vesículas o pústulas.

Datos clínicos

Es preciso hacer aquí una distinción entre las dos variedades de la viruela. La viruela mayor es la enfermedad conocida desde la antigüedad, que existió en Asia hasta su erradica-

ción, en 1975, y provocaba entre 20 y 25 % de casos fatales. La otra variante, la viruela menor, fue reconocida como entidad clínica a fines del siglo XIX, en los Estados Unidos, el sur y el oriente de África y, en menor medida, en Europa. La tasa de mortalidad por la viruela menor era inferior a 1 %. Aquí haremos referencia a la descripción de la viruela mayor.

El período de incubación estaba entre los diez y los catorce días y frecuentemente era de doce días. El comienzo de la enfermedad era agudo, con fiebre, malestar, cefalea y dolor en la espalda. La fase toxémica inicial duraba cuatro o cinco días, y en individuos de piel clara, estaba a veces acompañada por una erupción eritematosa o, menos comúnmente, petequeal. Aproximadamente en el tercer o cuarto día después del inicio de los síntomas, se manifestaba la erupción focal característica, primero en la boca y la mucosa faríngea, el rostro, los antebrazos y manos. En un día o dos, estas se diseminaban al tronco y los miembros inferiores. A diferencia de la varicela, todas las lesiones se encontraban en la misma etapa de su desarrollo. Las lesiones de la erupción focal comenzaban como máculas que evolucionaban rápidamente a pápulas firmes y de allí a vesículas que rápidamente se hacían opacas y pustulares. Las pustulas se alzaban a menudo sobre la superficie de la piel y eran tensas y firmes al tacto. Ocho o nueve días después del comienzo de la erupción, las pustulas se volvían umbilicadas, secándose para dar lugar a costras entre el decimocuarto y el decimosexto día. Al final de la tercera semana, las costras se habían separado, excepto en las palmas de las manos y las plantas de los pies.

La distribución de la erupción, así como su evolución, era altamente característica porque se producía más profusamente en el rostro; más abundantemente en los antebrazos que en los brazos, y en las piernas que en los muslos; y más escasamente en el tronco, especialmente en el abdomen.

La descripción anterior está relacionada con la viruela de tipo ordinario, que era la presentación clínica más común, tanto en la viruela mayor como en la menor. De acuerdo con la severidad de la erupción, la viruela de tipo ordinario se clasificaba en confluyente, semiconfluyente y discreta. La viruela menor era casi siempre de tipo ordinario y discreto, la toxemia era menor y las lesiones individuales eran más pequeñas. La recuperación de las lesiones se producía más rápidamente que en la viruela mayor.

Otros tres tipos clínicos de viruela eran también constatados. La viruela de tipo hemorrágico se manifestaba raramente, pero estaba asociada con un mal pronóstico, y se caracterizaba por petequias en la piel, y sangramientos de la conjuntiva y las membranas mucosas, toxemia muy severa y mortalidad temprana, a menudo antes de que las lesiones de la erupción focal se hubieran desarrollado. La viruela de tipo plano, también fatal en la mayoría de los casos, tenía como rasgos distintivos la toxemia intensa, la aparición tardía y la evolución lenta de las lesiones cutáneas focales, las cuales eran planas y blandas.

Por último, la viruela de tipo modificado era el resultado de una inmunización previa contra la viruela. Las lesiones evolucionaban rápidamente, tenían un tamaño variable comparado con el de las lesiones de viruela de tipo ordinario y discreto, y a menudo su número era escaso.

Respuesta inmune

Las células T citotóxicas constituían el primer componente de la respuesta inmune específica contra el virus de la viruela. Ellas reconocían antígenos virales localizados en las membranas celulares y podían destruir células infectadas antes de que se produjeran viriones completos. Más tarde, los anticuerpos neutralizantes, dirigidos unos contra los virus envueltos y otros contra los virus no envueltos, bloqueaban la infectividad de las formas envuelta y no envuelta del virus de la viruela, respectivamente. La actividad de las células T citotóxicas y el título de los anticuerpos se incrementaban con el tiempo. Además, los macrófagos infectados y los linfocitos producían interferón.

Diferentes tipos clínicos de la viruela podían ser comprendidos desde la perspectiva de la respuesta inmune. El desarrollo de una respuesta celular vigorosa temprana durante la infección, estaba asociado con la restricción efectiva de la multiplicación viral y, en consecuencia, con una viruela discreta. Si por el contrario, la respuesta inmune celular era deficiente, el caso podía presentarse como viruela de tipo plano. La viruela hemorrágica se debía a una inmunodeficiencia combinada; es decir, a una deficiencia en las ramas humoral

y celular de la respuesta inmune. El virus se multiplicaba entonces sin restricciones en el bazo y la médula ósea, se producía una mayor viremia que en individuos inmunocompetentes y la destrucción de los megacariocitos en la médula ósea conllevaba a defectos en la coagulación.

Las lecciones extraídas de la vacunación revelaban la importancia de la inmunidad celular para la recuperación de las infecciones por los poxvirus. La vacuna progresiva, una temida complicación de la vacunación, se manifestaba en niños con defectos en la inmunidad celular, mientras que en individuos con la inmunidad celular normal y agammaglobulinemia, la recuperación era completa.

Es innegable, sin embargo, la función de los anticuerpos en la recuperación de la infección y en la protección contra la reinfección. Los anticuerpos neutralizantes que reconocían la envoltura protegían contra la diseminación del virus en el individuo, y los específicos contra los túbulos superficiales de la membrana externa de los viriones neutralizaban la infectividad, pero no la diseminación de los viriones envueltos.

La inmunidad contra la reinfección por el virus variólico era prolongada en las personas que habían sufrido viruela natural, y menor en las personas inmunizadas con el virus de la vacuna. La duración de la inmunidad inducida por la vacunación era menor si el individuo se ponía en contacto con cepas del virus de la viruela productoras de la viruela menor. El virus variólico no persistía en el cuerpo después de la recuperación.

Diagnóstico diferencial

Los casos de viruela hemorrágica pueden ser erróneamente interpretados como septicemia meningocócica o leucemia aguda. La viruela mayor de tipo modificado o la viruela menor de tipo ordinario, pueden ser confundidas con la varicela. La sífilis secundaria o el eritema multiforme pueden conducir a dificultades en el diagnóstico.

Diagnóstico de laboratorio

El examen microscópico directo del material de lesiones cutáneas, el aislamiento de virus infecciosos del paciente, la identificación de antígenos virales en la región de las lesiones y la serología, son los principios en los que se basa el diagnóstico de laboratorio de la viruela.

Aislamiento e identificación de virus. La muestra de elección para el aislamiento es el material de las lesiones cutáneas. Los poxvirus son muy estables y se mantienen viables durante semanas en muestras a temperatura ambiental.

El virus de la viruela puede ser identificado por observación directa de preparaciones de material clínico teñido negativamente para microscopía electrónica. Este procedimiento permite diferenciar con rapidez entre una infección por poxvirus y una por varicela, pero no entre las infecciones por dos miembros de *Orthopoxvirus* porque las diferencias entre ellos en cuanto a tamaño y morfología son sutiles. La observación directa de material de lesiones cutáneas mediante el microscopio electrónico es igualmente útil cuando se quiere distinguir entre las infecciones causadas por *Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus* y *Tanapoxvirus*.

El aislamiento se realiza en la membrana corioalantoidea (MCA) de embriones de pollo, por inoculación de líquido vesicular o pustular y de suspensión de costras. Esta es la prueba principal o prueba de oro para el diagnóstico de laboratorio de la viruela. De hecho, las propiedades de las pústulas formadas en la MCA servían para la diferenciación del virus de la viruela y del virus de la vacuna, sobre todo cuando este último causaba vacuna generalizada. A los tres días de la inoculación, las pústulas producidas por el virus de la vacuna eran mayores y más planas que las del virus variólico, solían tener su centro necrosado y podía haber hemorragia en las pústulas o en la MCA. Los virus de la viruela bovina y de la viruela del mono causan lesiones hemorrágicas distintivas. Los *Parapoxvirus*, el virus tanapox, el virus del molusco contagioso y el virus de la varicela no crecen en la MCA.

El virus variólico puede ser aislado principalmente en cultivos de células de primates homínidos y no homínidos. La capacidad de crecimiento en células cultivadas varía entre los poxvirus: es superior para los ortopoxvirus, decrece para los *Parapoxvirus* y el virus tanapox, y el virus del molusco contagioso no crece en cultivos celulares.

En los laboratorios en los que no se dispone de un microscopio electrónico, el método de precipitación en gel de agar constituye una prueba aceptable para el diagnóstico de la viruela. Esta prueba tiene la desventaja de que cantidades insuficientes de muestra de vesículas, pústulas o costras pueden influir en el alcance de resultados falsos negativos.

Serología. La serología no sustituye el aislamiento viral, pero lo complementa. Los anticuerpos contra el virus de la viruela pueden ser detectados, después de la primera semana de la enfermedad, por una variedad de técnicas que incluyen la inhibición de la hemaglutinación, la neutralización, los ensayos inmunoenzimáticos y radioinmunológicos y la inmunofluorescencia. Estas técnicas son incapaces de diferenciar entre diferentes ortopoxvirus, los cuales exhiben reacciones serológicas cruzadas extensivas.

Epidemiología

La viruela era una enfermedad específicamente humana y no existía ningún reservorio animal conocido del virus variólico. Aunque este virus poseía una elevada resistencia a la inactivación por agentes físicos y químicos, la infección se producía casi siempre por el contacto estrecho de un individuo susceptible con una persona que padecía la viruela clínica. Las pequeñas gotas de secreciones orofaríngeas eran más infectantes que las lesiones cutáneas.

La detección y el reconocimiento de los casos se realizaban con facilidad, debido a que la erupción era usualmente bastante distintiva y se manifestaba principalmente en las partes no cubiertas del cuerpo. La infecciones subclínicas ocurrían raramente, excepto en contactos estrechos vacunados de los casos. Estos individuos raramente o nunca transmitían la viruela a otros y eran de escasa o nula importancia epidemiológica. Casi todos los casos nuevos podían ser definidos como contactos de casos reconocidos. Un ataque de viruela era seguido por la recuperación o por la muerte. La infección latente o recurrente no se producía y los casos nunca fueron infecciosos después que la erupción cesaba.

Las diferentes cepas del virus variólico tenían diferencias en su virulencia. La tasa de casos fatales de las cepas causantes de viruela mayor en personas no inmunizadas oscilaba entre 5 y 15 % y era más comúnmente de 25 %, con variaciones amplias según las zonas geográficas, mientras que la tasa de casos fatales de las cepas asociadas con la viruela menor era de menos de 1 %. En cambio, ninguna de las cepas del virus variólico podía ser distinguida desde el punto de vista antigénico. En la gran mayoría de los casos, la inmunidad contra la reinfección era absoluta. Una protección similar, pero de menor duración, se conseguía por la inmunización con una vacuna de virus vivo basada en un ortopoxvirus relacionado, tal como el virus de la viruela bovina o el virus de la vacuna.

Existía una incidencia estacional pronunciada para la viruela: esta enfermedad se producía esencialmente entre los meses de invierno y primavera. Su diseminación era más bien lenta. Había un intervalo de dos a tres semanas entre cada generación de casos y, aun en la temporada de transmisión, un caso índice infectaba raramente a más de cinco personas.

La erradicación de la viruela fue exitosa debido a los siguientes factores epidemiológicos: la ausencia de un reservorio animal conocido, la ausencia de casos subclínicos, la ausencia de infecciosidad de los casos en la fase prodrómica, la ausencia de infección persistente, la posibilidad del reconocimiento temprano de los casos y de la identificación fácil de los contactos para la institución de las medidas de contención, la existencia de un solo serotipo del virus variólico y la existencia de una vacuna antigénicamente estable, que se administraba en una sola dosis y no necesitaba de la cadena de frío.

Virus de la vacuna

El virus de la vacuna, empleado para la inmunización contra la viruela, es una especie definida del género *Orthopoxvirus*. En los inicios de la vacunación, Jenner utilizó el virus de la viruela bovina y, al parecer, el virus vacunal se derivó del primero, o quizás de otro ortopoxvirus, por pases sucesivos bajo condiciones artificiales de cultivo. Otras hipótesis acerca del origen del virus de la vacuna sugieren que este es un híbrido entre el virus de la viruela bovina y el virus variólico o que puede ser el descendiente de laboratorio de un virus actualmente extinguido en la naturaleza. Independientemente de estas hipótesis, es un hecho que el virus de la vacuna tiene propiedades distintas al resto de los ortopoxvirus,

como lo prueba el análisis de restricción del ADN de los miembros de este género, en el cual los mapas de restricción de las cepas del virus vacunal son consistentemente semejantes entre sí y diferentes de los de todos los demás ortopoxvirus, incluidos el virus de la viruela bovina y el virus variólico.

El virus de la viruela tenía una gama de hospederos restringida, pues solo infectaba a humanos y a monos, en tanto que el virus de la vacuna posee una gama de hospederos mucho más amplia. De hecho, algunas cepas del virus vacunal pueden causar una enfermedad grave en conejos —llamada viruela del conejo—, o infectar diferentes bóvidos, incluidos los búfalos de agua de la India, los cuales aún manifiestan la enfermedad. Tanto el virus de la vacuna como el variólico producen pústulas en la MCA de embriones de pollo de 10 a 12 días de edad, pero estas se diferencian fácilmente (ver el acápite “Diagnóstico de laboratorio del virus de la viruela”). Las características culturales de ambos virus en líneas de células de pollo y de primates son semejantes.

Las secuencias de nucleótidos de los virus de la vacuna (186 kpb) y de la viruela (192 kpb) divergen escasamente, con la mayor divergencia encontrada en las regiones terminales de ambos genomas. Si las 187 supuestas proteínas de estos virus son comparadas, 150 poseen similar secuencia, mientras que las 37 restantes muestran divergencias o son específicas del virus variólico, por lo que se considera que pueden ser determinantes de virulencia.

Vacuna contra la viruela

A pesar de que el virus de la vacuna había sido exitosamente propagado en embriones de pollo y en cultivos celulares para la producción del inmunógeno contra la viruela, el Programa Intensificado de Erradicación de la Viruela empleó el método tradicional de producción. Este método se basaba en la inducción de lesiones cutáneas por el virus vacunal en bovinos u ovinos, para luego preparar una suspensión clarificada de virus — la linfa—, a partir de tales lesiones. En la formulación final estaba incluido el fenol en una concentración de 0,5 %, que era la concentración máxima a la cual la contaminación bacteriana resultaba impedida sin que se afectara la potencia o la estabilidad térmica de la vacuna. Las normas de la OMS establecían que la potencia de la vacuna contra la viruela debía ser de 10^8 unidades formadoras de pústulas/mililitro.

Vacunación contra la viruela y sus complicaciones

A los cuatro o cinco días de la inmunización de un individuo susceptible al virus variólico con el virus de la vacuna, este producía la formación de una pápula en el sitio de inoculación, la cual evolucionaba en dos o tres días a una vesícula umbilicada y multilocular, llamada vesícula de Jenner en honor al pionero de la vacunación. La vesícula contenía un infiltrado de células inflamatorias y la lesión central se encontraba rodeada por eritema e induración, que alcanzaban su diámetro máximo entre los noveno y décimo días. En este tiempo, los ganglios submaxilares incrementaban su tamaño y eran dolorosos, y muchos pacientes tenían fiebre moderada. La pústula se secaba desde su centro hacia fuera. Cuando la costra se desprendía, aproximadamente a las tres semanas de la inmunización, quedaba una cicatriz característica.

En raras ocasiones, la vacunación era sucedida por complicaciones serias. La más seria de todas, la vacuna progresiva, como su nombre lo indica, significaba para el paciente un incremento progresivo de la talla de las lesiones debidas al virus vacunal, no solo de la correspondiente al sitio de inoculación, sino también las que aparecían en cualquier parte del cuerpo. La vacuna progresiva era casi siempre fatal. El eccema del vacunado ocurría en niños con eccema en el momento de ser inmunizados o de ponerse en contacto con vacunados. Los sitios del cuerpo que eran eccematosos se inflamaban intensamente debido a la erupción provocada por el virus de la vacuna. El pronóstico era desfavorable para los niños en los cuales estaban afectadas grandes áreas de la piel. Con el fin de prevenir estas complicaciones, la vacunación estaba absolutamente contraindicada en casos de deficiencias inmunológicas, y contraindicada o llevada a cabo si se ponía tratamiento con inmunoglobulina antivacuna, en casos de eccema.

La encefalitis posvacunal, cuya tasa de mortalidad ascendía hasta 40 %, era otra de las complicaciones graves de la inmunización con el virus de la vacuna. Se consideraba que esta

encefalitis podía ser la consecuencia del efecto directo del virus de la vacuna sobre el sistema nervioso central, o de un efecto indirecto del virus vacunal que podía consistir en la activación de un virus latente en el sistema nervioso central, o de una reacción antígeno-anticuerpo de tipo alérgico. La patogenia y la patología de la encefalitis posvacunal eran similares a las de otras enfermedades desmielinizantes producidas después de las infecciones por los virus de la viruela, la varicela y el sarampión, o después de la inmunización contra la rabia.

Tres complicaciones más de la vacunación eran la vacuna generalizada, la infección accidental y la vacuna fetal. La vacuna generalizada era la infección sistémica por el virus vacunal, en la cual el patrón de distribución de las lesiones difería del descrito anteriormente para la viruela (Ver *Datos clínicos*) y el pronóstico era bueno. La infección accidental, comúnmente bajo la forma de infección oftálmica, se producía por la autoinoculación de un sitio lejano del sitio de vacunación. Finalmente, la vacuna fetal o infección fetal *in utero* ocurría durante el embarazo de una mujer vacunada. Era un evento extremadamente raro, pero casi siempre fatal para el feto.

La vacunación, de acuerdo con las complicaciones aquí relacionadas, estaba contraindicada en los individuos con inmunodeficiencias; en las personas con eccema o en cuya familia existiese algún individuo con eccema; en el embarazo y en las personas con desórdenes del sistema nervioso central o en cuya familia algún individuo estuviese afectado por un desorden del sistema nervioso central.

Tratamiento

Algunas de las complicaciones de la vacunación podían ser tratadas con la inmunoglobulina antivacuna o con metisazona.

La inmunoglobulina antivacuna, preparada a partir del plasma de personas con historia reciente de vacunación, era útil ante las siguientes situaciones clínicas: el eccema del vacunado, la autoinoculación accidental con el virus de la vacuna, o en algunos casos de vacuna progresiva. Estaba contraindicada para el tratamiento de la encefalitis posvacunal.

La metisazona constituyó el único agente terapéutico con algún valor para el tratamiento de las infecciones por los poxvirus. Fue empleada con un éxito moderado en la vacuna progresiva, condición en la que la inmunoglobulina antivacuna no tenía ningún efecto.

Viruela del mono en humanos

El virus de la viruela del mono fue descubierto como una enfermedad de primates de laboratorio en Copenhague, en 1958. Sin embargo, a principios de la década de 1970, fue reconocido como la causa de una enfermedad humana similar a la viruela, en África occidental, después que la viruela había sido erradicada en esa región.

La viruela del mono en humanos es una rara zoonosis solo circunscrita a poblados situados en las selvas húmedas tropicales de África occidental y central, en particular en Zaire (hoy República Democrática del Congo). Su adquisición probable se considera debida al contacto directo con animales salvajes empleados para la alimentación, especialmente ardillas y monos.

Los aspectos clínicos de la viruela del mono en humanos fueron establecidos sobre la base del examen de 264 pacientes de todas las edades, pero mayormente (90 %) menores de quince años, infectados en Zaire de 1980 a 1985.

Esta zoonosis es clínicamente indistinguible de la viruela de tipo ordinario, excepto en la linfadenopatía cervical e inguinal importante que se produce en la viruela del mono en humanos. En algunos pacientes, la aparición de agrupamientos lesiones condujo a un diagnóstico erróneo de varicela.

Las complicaciones se presentaron a menudo y fueron mayormente graves. En general, la insuficiencia respiratoria y las infecciones bacterianas secundarias fueron las complicaciones más frecuentemente registradas. La inmunización con el virus de la vacuna protege contra el virus de la viruela del mono o reduce la gravedad de la enfermedad. En pacientes no vacunados la tasa de mortalidad es de aproximadamente 11 %.

Se conocen algunos casos de transmisión interpersonal, pero la tasa de ataque secundario es demasiado baja para que la enfermedad se considere establecida como una enfermedad humana endémica.

Virus de la viruela bovina

El virus de la viruela bovina ha sido reconocido como el agente etiológico de una enfermedad bovina en Europa por cientos de años. Las lesiones producidas por este virus están localizadas en los bovinos en ubres y tetillas, mientras que en los humanos, en las manos. La enfermedad humana es entonces una enfermedad ocupacional de los ordeñadores de vacas que se ponen en contacto directo con el virus durante el ordeño y su gravedad es mayor en personas no inmunizadas con el virus de la vacuna que en las inmunizadas.

Las lesiones por el virus de la viruela bovina se observan más frecuentemente en los pulgares, el primer pliegue interdigital y el dedo índice. Los sitios de las lesiones en las manos, los antebrazos y el rostro, coinciden con sitios de heridas o abrasiones en la piel, las cuales son la puerta de entrada para el virus de la viruela bovina. Las lesiones locales pueden estar acompañadas de linfangitis y linfadenitis. La viruela bovina nunca se manifiesta como una erupción generalizada.

El virus de la viruela bovina y el virus vacunal tienen similar gama de hospederos y la inmunología de las infecciones por estos virus es también semejante. En el laboratorio, ambos virus pueden ser distinguidos por las pústulas características que ambos producen en la MCA de embriones de pollo.

El virus de la viruela bovina, de amplia gama de hospederos, está relacionado con infecciones enzoóticas en roedores; pasa ocasionalmente a otros animales como los gatos, las vacas, los animales de zoológico y a veces a humanos. A su vez, los animales infectados por roedores pueden ser la fuente de infecciones humanas (Fig. 62.4).

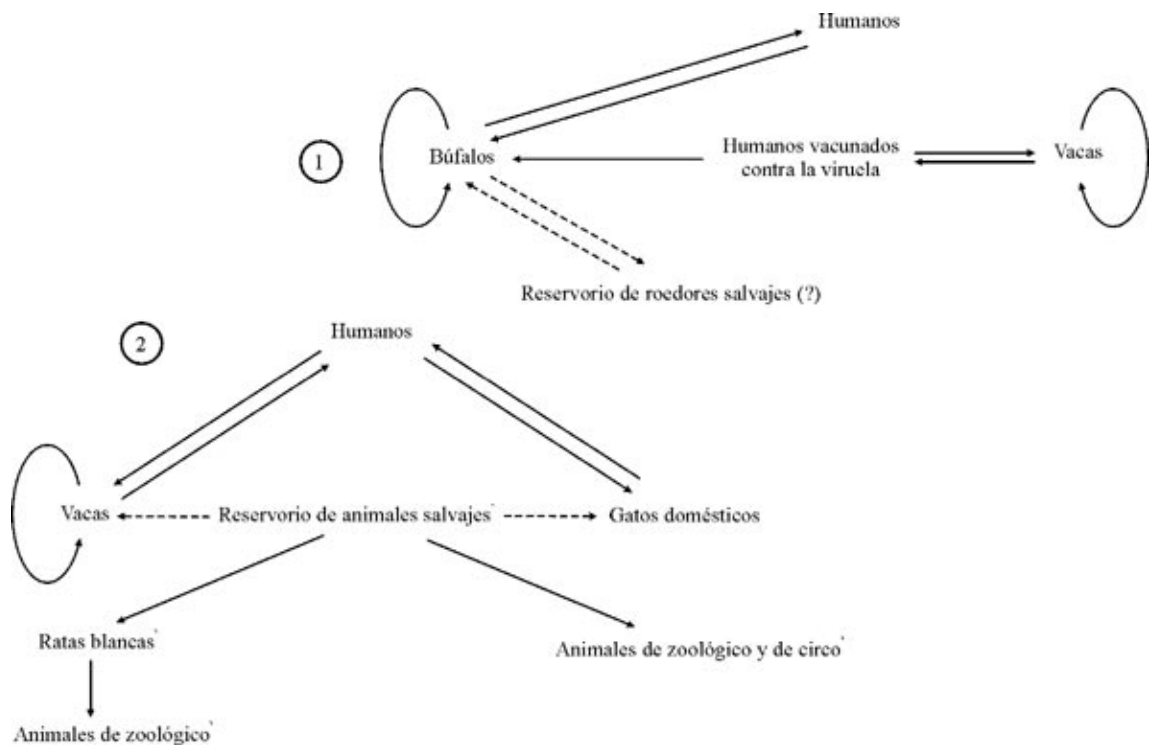


Fig. 62.4 Epidemiología de los virus de la viruela del búfalo (1) y la viruela bovina (2).

Líneas- sólidas- patrones conocidos de transmisión.

Líneas quebradas - patrones de transmisión presentes o posibles.

Varios roedores salvajes como hospederos naturales del virus de la viruela bovina en Europa y partes adyacentes de Asia.

a) Naturales: gerbos y ardillas terrestres en Turkmenia.

Rattus norvegicus en Rusia.

Probablemente ratones de campo y de agua en Gran Bretaña.

b) Brote en el zoológico de Moscú.

Viruela del búfalo

Esta enfermedad ocurrió en búfalos de agua en Egipto, el subcontinente indio e Indonesia. Todavía tiene lugar en la India.

Se ha confirmado por análisis de restricción que el virus causante de la viruela del búfalo es el virus de la vacuna. Sin embargo, el análisis de restricción ha mostrado que las cepas aisladas de búfalos con la enfermedad son diferentes de las cepas de laboratorio del virus de la vacuna y de las usadas para la vacunación en la India.

La viruela del búfalo se caracteriza por lesiones pustulosas en las ubres y las tetillas de los animales usados para la obtención de leche. La enfermedad en el búfalo y en el ganado vacuno puede ser indistinguible de la viruela bovina. Las infecciones humanas tienen como resultado lesiones similares en las manos y el rostro de los ordeñadores.

INFECCIONES POR *PARAPOXVIRUS*

En el género *Parapoxvirus* están incluidos varios virus que causan enfermedades en animales. Solo dos de estas enfermedades se transmiten al hombre, la dermatitis pustular contagiosa, también llamada úlcera bucal, cuyo agente etiológico es el virus orf, y los nódulos de los ordeñadores, que se deben al virus de la seudovacuna o de la seudoviruela bovina.

Los *Parapoxvirus* son resistentes al éter y al cloroformo, pero son inactivados por el calentamiento a 58 °C por 30 min. El virus orf permanece viable por largo tiempo en costras secas y así se mantiene la infección enzoótica en ovejas bajo condiciones de campo.

Estos virus no producen pústulas en la MCA. Ellos tienen la capacidad de reactivar ortopoxvirus inactivados por calor. Pueden ser aislados en células embrionarias primarias de riñón o testículos de bovinos u ovinos, o en células primarias de amnios humano. Una vez aislados, crecen bien en fibroblastos embrionarios humanos o en células LLC-MK2 (línea continua de riñón de mono *rhesus*).

Patogenia y patología

A diferencia de los ortopoxvirus, que causan lesiones pustulares, los *Parapoxvirus* inducen lesiones de marcado carácter proliferativo. Los cambios patológicos tempranos que ocurren en la capa proliferativa de queratinocitos son el aumento del tamaño de los nucléolos y la lisis focal de las fibrillas de queratina. Se produce degeneración celular en balón, que se caracteriza por la extrema hinchazón celular. Para el virus orf, la tríada constituida por la degeneración en balón, las inclusiones citoplasmáticas y la reducción del tamaño del núcleo, es patognomónica. La infección de las células endoteliales puede derivar en proliferación endotelial.

Datos clínicos

Tanto la dermatitis pustular contagiosa como los nódulos de los ordeñadores son enfermedades ocupacionales adquiridas por el contacto con ovejas o vacas, respectivamente. La infección ocurre a través de abrasiones en la piel y conduce a lesiones localizadas en las manos y a veces en el rostro. Las lesiones causadas por el virus orf son nódulos relativamente grandes, que pueden ser múltiples y la piel circundante se inflama. Pueden estar acompañados de fiebre y linfadenopatía. Las lesiones locales son más bien dolorosas. Las lesiones producidas por el virus de la seudoviruela bovina son nódulos hemisféricos lisos, firmes y elásticos, de color púrpura por estar altamente vascularizados. Cuando se han desarrollado completamente, pueden ser umbilicados. Son relativamente indoloros, pero producen escozor. Las lesiones remiten en cuatro a seis semanas porque el tejido de granulación que compone la masa de la lesión es absorbido. La linfadenopatía también puede estar presente.

INFECCIONES POR *YATAPOXVIRUS*

La primera vez que se tuvo noticia de una epidemia causada por el virus tanapox, fue en 1957, en Kenia. Luego, se demostró por estudios seroepidemiológicos la endemidad de este virus en el área y se registraron muchos casos en Zaire. En 1966, varios cuidadores de animales resultaron infectados durante un brote entre monos macacos en tres centros de los Estados Unidos. Se cree que el reservorio del virus tanapox es el mono, aunque pudiera ser solo un hospedero accidental, y que la transmisión al hombre ocurre a través de la picadura por artrópodos que actúan como vectores mecánicos.

El virus Yaba del tumor del mono fue aislado, por vez primera, a partir de tumores subcutáneos en una colonia de monos *rhesus* en Nigeria. Después de su administración subcutánea o intradérmica, este virus produce histiocitomas en la piel de monos y humanos, pero no en otros animales. La infección de humanos por el virus Yaba no se ha observado en condiciones naturales en África.

Los virus tanapox y Yaba tienen morfología similar a la de los ortopoxvirus pero, a diferencia de los virus variólico o de la viruela del mono en humanos tomados de fluido vesicular o de costras, son generalmente envueltos.

Estos virus no crecen en la MCA de embriones de pollo, pero sí en células de línea humanas o de monos. Los ECP característicos son una granulación intracelular intensa seguida por el redondeamiento celular. Las cepas de Zaire fueron aisladas en células LLC-MK2, pero a una temperatura de 33,5 °C, inferior a la habitualmente utilizada, que es de 35,5 °C.

Patogenia y patología

En las lesiones por tanapox en humanos, se produce un marcado engrosamiento de la epidermis, con degeneración en balón extensiva de la capa de células espinosas. Las células epidérmicas hinchadas contienen inclusiones de tipo-B organizadas en grandes cuerpos de inclusión. Los núcleos celulares aparecen hinchados, con la cromatina marginada hacia la periferia y grandes nucléolos.

De 5 a 20 días después de su inoculación subcutánea o intradérmica, el virus Yaba del tumor del mono produce tumores tanto en monos como en humanos. Estos tumores están compuestos por masas de histiocitos y más tarde resultan infiltrados por linfocitos y leucocitos polimorfonucleares. Como no se produce una proliferación neoplásica verdadera, las lesiones remiten con el desarrollo de la respuesta inmune.

Aspectos clínicos

El período de incubación en los casos humanos de infección natural se desconoce, pero en personas infectadas con 10^4 partículas virales aproximadamente, el eritema y el engrosamiento epidérmico central se produjeron al cuarto día. Muchos pacientes tienen fiebre preeruptiva baja, a veces acompañada de cefalea y dolor en la espalda, y a menudo de escozor en el sitio de desarrollo de la lesión.

El curso clínico de la enfermedad se inicia con la formación de un nódulo parecido al que se produce por la picadura de un insecto. Continúa la formación de una pápula, que aumenta de tamaño para alcanzar unos 15 mm al cabo de dos semanas. El nódulo aparece rodeado de una zona edematosa y una gran areola eritematosa. Al quinto día de la lesión cutánea, los nodos linfáticos que drenan el sitio de la lesión se inflaman y se vuelven dolorosos. El nódulo puede no seguir evolucionando, o pasar a una úlcera durante la tercera semana, que sana de 5 a 6 semanas más y deja una cicatriz. En Kenia las lesiones eran a menudo únicas y se localizaban en los brazos, el rostro, el cuello y el tronco. En Zaire, sin embargo, una quinta parte de los pacientes mostraba lesiones múltiples, cuyo número aumentaba desde 2 hasta 10. Especialmente si las lesiones son múltiples, el diagnóstico de las lesiones por el virus tanapox se complica por el hecho de que estas pueden ser confundidas con las causadas por el virus de la viruela del mono en humanos.

INFECCIONES POR *MOLLUSCIPOXVIRUS*

El molusco contagioso es una enfermedad cosmopolita, específicamente humana. Sin embargo, existen regiones del mundo donde la infección es extremadamente común; por ejemplo, Papua Nueva Guinea, Zaire o Fiji, esta última con un 4,5 % de su población con lesiones. El molusco contagioso se caracteriza por la presencia de múltiples tumores pequeños y no inflamados en casi todo el cuerpo. El virus que causa esta enfermedad no está serológicamente relacionado con ningún otro poxvirus, infecta todos los grupos de edades, pero más comúnmente a los niños, y se disemina directamente por vía del contacto directo, indirectamente por vía de los fomites, y en adultos jóvenes puede transmitirse sexualmente.

Todos los intentos de multiplicar el virus del molusco contagioso en cultivos celulares han sido infructuosos. Sin embargo, a las 24 h de la inoculación de altas concentraciones de este virus, los procesos de adsorción, penetración y desensambladura tienen lugar en células humanas y de primates, las cuales exhiben ECP reversibles.

El virus del molusco contagioso es pobremente inmunogénico. En los casos individuales, las lesiones pueden persistir tan poco como dos semanas o tanto como dos años. La reinfección es común. Las lesiones no contienen células del sistema inmune; los anticuerpos antivirales específicos solo se detectan en 70 % de los casos.

Patogenia y patología

La lesión típica del molusco contagioso consiste de una masa de epidermis hipertrofiada e hiperplásica que se extiende hacia la dermis subyacente sin ruptura de la membrana basal y se proyecta hacia arriba en forma de un tumor cutáneo visible. Se produce un incremento de la mitosis en la capa germinal, por encima de la cual se manifiestan cambios patológicos en el citoplasma y los núcleos. Cada célula alcanza un tamaño varias veces superior al normal y el citoplasma se llena de una masa acidofílica granular llamada cuerpo del molusco, la cual desplaza el núcleo hacia la periferia celular. El centro de la lesión consiste de células epidérmicas en fase degenerativa, con cuerpos de inclusión, y de abundante queratina producida por las células no infectadas. La lesión totalmente desarrollada es loculada y hay muy poca reacción inflamatoria en el corium, a menos que se produzca una infección bacteriana secundaria.

Aspectos clínicos

Las lesiones del molusco contagioso se forman en la capa epidérmica de la piel y tienen el aspecto de nódulos umbilicados de color rosáceo, su diámetro puede variar entre los 2 y los 5 mm. El período de incubación en voluntarios inoculados es de 14 a 50 días. Las lesiones aparecen en cualquier parte del cuerpo excepto en las plantas o las palmas y pueden estar agrupadas, lo que sugiere infecciones simultáneas múltiples o diseminación mecánica localizada. En el individuo, es poco probable que el virus se disemine por vía hematogena. Los nódulos son indoloros y en el borde de cada uno existe una abertura, a través de la cual puede observarse un pequeño centro blanco.

La enfermedad es crónica y a menudo persiste por meses o años antes de que se produzca su resolución de manera espontánea o consecutivamente a un trauma o una infección bacteriana. Las recurrencias son bastante comunes y se deben probablemente a reinfección.

RESUMEN

Los poxvirus están entre los virus más grandes y más complejos genéticamente entre todos los virus animales. A diferencia de la mayoría de los virus con genoma de ADN, se replican en el citoplasma y codifican para muchas proteínas que hacen posible la ocurrencia de la transcripción y la replicación fuera del núcleo celular. La expresión génica está

estrictamente regulada por un mecanismo en cascada y la ensambladura del virión es un proceso complejo que involucra la formación de múltiples membranas. Las proteínas virales son usadas para la evasión del sistema inmunitario del hospedero.

Los virus de la viruela y del molusco contagioso son poxvirus específicamente humanos. Otros siete poxvirus, pertenecientes a tres géneros, causan infecciones zoonóticas raras. El virus de la vacuna, prototipo del género *Orthopoxvirus*, es esencialmente un virus de laboratorio, usado para inmunizar a millones de personas contra la viruela. Todas las infecciones por poxvirus se manifiestan clínicamente como lesiones cutáneas. En humanos, estas lesiones pueden ser pustulares (las producidas por los ortopoxvirus), pero también proliferativas (las inducidas por los virus orf y de la seudoviruela, los *Yatapoxvirus* y el virus del molusco contagioso). Los virus de la viruela y de la viruela del mono en humanos se diseminan en el individuo infectado por vía hematológica —viremia asociada a macrófagos—, y producen así enfermedades generalizadas. La inmunidad contra los poxvirus es de larga duración, excepto en el caso de los *Parapoxvirus* o del virus del molusco contagioso, que inducen una inmunidad de corta duración y, consecuentemente, las reinfecciones por estos agentes son comunes. La viruela es la única enfermedad infecciosa erradicada del planeta.

BIBLIOGRAFÍA

- Arita M, Tagaya I. Virion polypeptides of poxviruses. *Arch Virol* 1980; 63:209-25.
- Boulter EA, Appleyard G. Differences between extracellular and intracellular forms of poxviruses and their implications. *Prob Med Virol* 1973;16:86-108.
- Fenner F, Henderson DA, Arita I, Jezek Z, Ladnyi ID. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization, 1988.
- Jezek Z, Fenner F. Human monkeypox. *Virol Monogr*, vol. 17; Basel: Karger, 1988.
- McFadden G. Even viruses can learn to cope with stress. *Science* 1998;279:40-1.
- Moss B, Carroll MW, Wyatt LS, Bennink JR, Hirsch VM, Goldstein S, *et al.* Host range-restricted, non-replicating vaccinia virus vectors as vaccine candidates. *Adv Exp Med Biol* 1996;397:7-13.
- Murphy FA. Virus taxonomy. *In:* Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock MR, Melnick JL, Monath TP, *et al* editores. *Fields Virology*. 3a. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996;1:15-57.
- Organización Panamericana de la Salud. Guía para el diagnóstico de la viruela en el laboratorio para los programas de erradicación de la viruela. Ginebra, 1970.
- Palumbo GJ, Buller RML. Poxvirus pathogenesis. *Microbiol Rev* 1991;55:80-122.
- Smallpox eradication: destruction of variola virus stocks. World Health Organization; 2000. Report No. EB106/3.



Hepatitis

Licel de los Ángeles Rodríguez Lay
Pedro J. Mas Lago

INTRODUCCIÓN

Hipócrates describió una epidemia de ictericia hace más de 2000 años. En la cuarta década de este siglo se comprobó la etiología viral de estas infecciones hepáticas (hepatitis viral). Desde entonces se han reconocido diferentes tipos de hepatitis virales. La Hepatitis viral es un conjunto de enfermedades clínicamente semejantes entre sí, pero de etiología y epidemiología diferentes e incluye: la hepatitis viral tipo A, causada por el virus de la hepatitis A (VHA), la hepatitis viral tipo B, causada por el virus de la Hepatitis B (VHB), la hepatitis viral tipo C, causada por el virus de la Hepatitis C (VHC), la hepatitis viral tipo D, causada por el virus de la hepatitis Delta (VHD) y la hepatitis viral tipo E, causada por el virus de la hepatitis E (VHE). Nuevos virus han sido reportados como agentes causales de hepatitis, entre ellos están el virus de la hepatitis G (VHG), el virus TT (VTT) y el virus SEN (SEN-V). Otros virus que, en su infección sistémica, pueden ocasionalmente causar hepatitis incluyen al *Citomegalovirus* humano, el virus *Epstein-Barr*, el virus de la rubéola, el virus de la fiebre amarilla, el virus del herpes simplex y algunos enterovirus.

AGENTE ETIOLÓGICO. PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS. REPLICACIÓN VIRAL

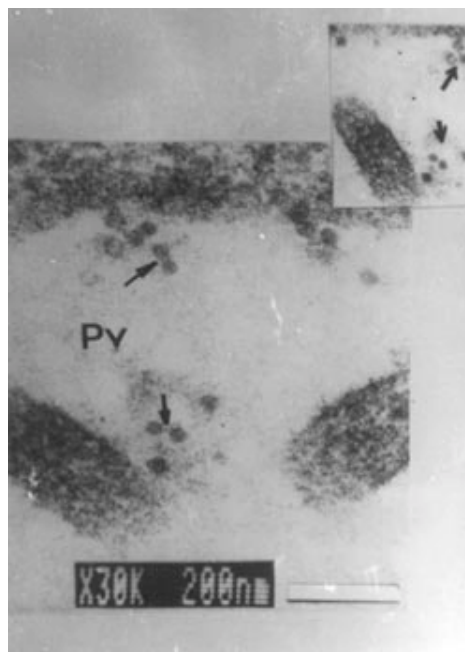
Las características de los virus de las hepatitis se resumen en el Cuadro 63.1.

VIRUS DE LA HEPATITIS A

El VHA fue primeramente observado, en 1973, en las heces fecales de un paciente infectado, usando la inmunomicroscopia electrónica. El VHA pertenece a la familia *Picornaviridae*, género *Hepatovirus*. Posee un tamaño pequeño (27 a 32 nm), densidad en CsCl de 1,32 a 1,34 g/cm³, simetría icosaédrica y no poseen envoltura (Fig. 63.1). Presenta tres proteínas de la cápside, la VP1 con un peso molecular de 30 a 33 kDa, la VP2 de 24 a 29 kDa y la VP3 de 21 a 27 kDa.

Cuadro 63.1. Características de los virus de las hepatitis

Virus Familia	Hepatitis A <i>Picornaviridae</i>	Hepatitis B <i>Hepadnaviridae</i>	Hepatitis C <i>Flaviviridae</i>	Hepatitis D No clasificado	Hepatitis E <i>Caliciviridae</i>
Género	Hepatovirus	Orthohepadnavirus	Hepacivirus	Deltavirus	Sin nombre
Virión	27-32 nm, icosaédrico	42 nm, esférico	30-72 nm, esférico	35-37 nm, esférico	27-34 nm, icosaédrico
Envoltura	No	Si	Si	Si	No
Genoma	ARN simple cadena	ADN parcialmente bicatenario	ARN simple cadena	ARN simple cadena	ARN simple cadena
Tamaño del genoma	7,5 kb	3,2 kb	9,5 kb	1,7 kb	7,6 kb
Estabilidad	Termoestable y ácido estable	Sensible al ácido	Sensible a los solventes	Sensible al ácido orgánicos y al ácido	Termoestable

**Fig. 63.1** Fotografía tomada del microscopio electrónico de la Cepa Cubana M2 del VHA aislada, en 1991.

El genoma viral consiste en un ARN lineal, de simple cadena y de aproximadamente 7,5 kb, posee un tallo poly(A) en el extremo 3' y una proteína viral (Vpg) en el extremo 5'. En el extremo 5' una región no codificante precede a un largo marco abierto de lectura (MAL) seguido por una pequeña región no codificante en el extremo 3'. El MAL codifica para una poliproteína de 2 227 aminoácidos, la cual se organiza en tres regiones, P1, P2 y P3. La región P1 codifica para cuatro proteínas de la cápside viral VP1, VP2, VP3 y VP4. La región P2 codifica para las proteínas 2A, 2B y 2C, la región P3 codifica para las proteínas 3A, 3B, 3C y 3D. Estas dos últimas regiones genómicas codifican para las proteínas no estructurales.

El VHA es resistente al ácido, al éter y al cloroformo. Son relativamente resistentes al calor (60°C durante 1 h), aunque se inactiva parcialmente después de 10 a 12 h a 60°C. Su infectividad se destruye después de calen-

tarse a 85°C por menos de 1 s. El virus se destruye en autoclave (121 °C durante 20 min), por ebullición en agua durante 5 min, por calor seco (180 °C durante 1 h), por radiaciones ultravioletas (1 min a 1,1 Watts), por tratamiento con formalina (1:2000 durante 3 días a 37 °C), y por tratamiento por cloro (10 a 15 ppm durante 30 min). El virus puede preservarse por años a < 20 °C y por lo menos 1 mes en estado desecado a 25 °C.

Solo se conoce un serotipo del VHA. No se ha reportado reactividad antigénica cruzada con otros virus causantes de hepatitis ni con otros virus de la familia *Picornaviridae*.

Las cepas aisladas de hepatitis A han sido agrupadas en 7 genotipos (I a VII), incluyendo cuatro de origen humano (I, II, III y IV) y tres de origen animal (simios), que no son transmisibles al humano.

El VHA puede provocar infección en algunos primates, como el chimpancé, los monos lechuza (*Aotus trivirgatus*) y en muchas especies de monos tíes de América del Sur (*Saguinus mystax* y *S. Labiatus*).

El VHA es difícil de aislar y propagar "in vitro". El aislamiento a partir de especímenes clínicos requiere de muchas semanas y pases ciegos. Varios tipos de cultivos celulares, ya sean primarios o líneas continuas originadas de primates, soportan el crecimiento del virus. Los más usados son el cultivo primario de células de riñón de mono verde africano (AGMK), de fibroblastos humanos y de líneas de células diploides de pulmón humano (MRC-5). Las líneas derivadas de AGMK (BSC-1, Vero, BGMK), células de riñón de mono *Rhesus* fetal

(FRhK4, FRhK6, Frp/3) y de hepatomas humanos (PLC/PRF/5) son útiles para los estudios de replicación y de propagación.

Replicación viral

El evento inicial del proceso de replicación del VHA es la unión del virus a su receptor, conocido como α -2-macroglobulina, localizado en la membrana plasmática de la célula hospedera; este evento requiere de la presencia de Ca^{2+} . Posteriormente se produce la liberación del genoma viral en el citoplasma de la célula por un mecanismo no bien conocido, pero que involucra la pérdida de la proteína VP4 y la separación del ARN de la cápsida, proceso conocido como decapsidación.

La fase de eclipse es incompleta, probablemente debido a una replicación asincrónica. A continuación comienza la replicación viral. Una vez liberado el ARN de sentido positivo, este es amplificado a través de un intermediario de cadena negativa. El proceso de replicación se lleva a cabo en dos fases: la primera involucra la copia de la cadena de ARN positiva en una cadena negativa y la segunda utiliza esta cadena negativa para la síntesis posterior de ARN de cadena positiva. El ARN mensajero viral debe ser traducido de forma independiente, lo cual sucede por intermedio de un mecanismo interno de unión al ribosoma, que involucra la subunidad de 40S de este organelo. Las proteínas comienzan a aparecer en la célula infectada de acuerdo con su ubicación 5'-3' en el genoma y se produce como una gran poliproteína. Esta es procesada proteolíticamente, mientras se sigue formando, para originar un precursor de P1, P2 y P3. Esta última (P3) se autoprocesa para originar tres pequeñas proteínas que son: una proteinasa (3C), requerida para el procesamiento posterior del resto de las proteínas virales; la proteína 3AB, que origina la Vpg necesaria para el inicio de la síntesis del ARN viral y la polimerasa de ARN (3D).

Finalmente, con el incremento de la concentración de proteínas y la de ARN+, estas moléculas son empaquetadas en el virión, juntamente con el proceso de ensamblaje de las subunidades proteicas. De esta forma, queda conformada la progenie viral. La formación de la partícula infectiva tiene lugar por un proceso de maduración, en el cual la mayoría de la VPO es transformada a la forma madura de cuatro subunidades formadas por VP4, VP2, VP3 y VP1, lo cual es característico de todos los miembros de la familia *Picornaviridae*.

VIRUS DE LA HEPATITIS B

El VHB pertenece a la familia *Hepadnaviridae*, género *Orthohepadnavirus*. La microscopía electrónica de un suero reactivo al antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) revela tres formas morfológicas. Las partículas en mayor número son esféricas, miden 22 nm de diámetro, y están formadas de manera exclusiva por HBsAg; las formas tubulares o filamentosas tienen el mismo diámetro, pero pueden tener más de 200 nm de longitud generadas por la sobreproducción del HBsAg. Los más grandes son las llamadas partículas Dane, son viriones esféricos de 42 nm y se observan con menor frecuencia. La superficie más externa de la partícula Dane contiene HBsAg y rodea a un centro interno de la nucleocápsida de 27 nm que contiene el antígeno del core (HBcAg) (Fig. 63.2).

El genoma viral consiste en ADN circular parcialmente bicatenario con 3,2 kb de longi-

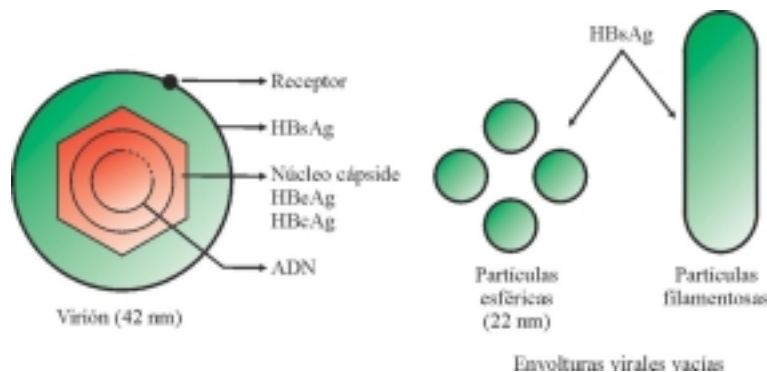


Fig. 63.2 Partículas víricas de la hepatitis B.

tud. Una cadena denominada "menos" es un círculo casi completo y contiene genes superpuestos que codifican tanto proteínas estructurales (pre-S, superficie, core) como proteínas replicativas (polimerasa, X). La otra cadena "más" es corta y de longitud variable. Existen cuatro MAL que codifican para las proteínas estructurales de la superficie (S) y del centro del virión (C), un pequeño transactivador transcripcional (X), y una proteína polimerasa grande (P) que incluye actividades de DNA polimerasa, transcriptasa inversa y RNAsa. El gen S tiene tres codones de inicio dentro del marco y codifica las proteínas de la envoltura, que están constituidas por tres polipéptidos: la proteína pequeña (S) que está compuesta por 226 aminoácidos, la proteína media (M) que incluye la secuencia completa de la proteína S más la región preS2 y la proteína grande (L) que incluye las regiones S, preS2 y preS1. El gen C tiene dos codones de inicio dentro del marco y codifica el HBcAg además de la proteína HBe que es procesada para producir antígeno e (HBeAg) soluble.

Las partículas de HBsAg son antigénicamente complejas; originalmente fueron clasificadas en cuatro subtipos *adw*, *ayw*, *adr* y *ayr* basada en la presencia de un determinante grupo-específico "a" y los determinantes específicos de subtipo *d* o *y* y *w* ó *r*. Después del descubrimiento de subtipos adicionales, la clasificación del HBsAg fue expandido para incluir nueve subtipos llamados: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq+ y adrq-.

La estabilidad del HBsAg no siempre coincide con la del agente infectante. Sin embargo, ambos son estables a $< 20^{\circ}\text{C}$ durante más de 20 años y estables a la congelación y la descongelación repetidos. El virus es estable a 37°C durante 60 min y permanece viable al menos una semana después de secado y almacenado a 25°C . El VHB es sensible a temperaturas más altas (100°C durante 1 min) o a períodos de incubación más prolongados (60°C durante 10 h) según la cantidad de virus presente en la muestra. El HBsAg es estable a pH de 2,4 por más de 6 h, pero se pierde la infectividad del VHB. El hipoclorito de sodio al 0,5 % destruye la antigenicidad en 3 min con concentraciones escasas de proteína, pero las muestras de suero no diluido requieren concentraciones mayores (5 %). El VHB es inactivado por el alcohol etílico al 80 % a 11°C por 2 min. El HBsAg no se destruye con la radiación ultravioleta del plasma o de otros productos sanguíneos, y la infectividad viral también puede resistir este tratamiento.

Replicación viral

El proceso de replicación de los hepadnavirus tiene cuatro características: en primer lugar se convierte el ADN asimétrico en ADN circular covalentemente cerrado (ADNccc). En segundo lugar, se realiza la transcripción del ADNccc para generar un intermediario de ARN (pregenoma viral). En tercer lugar, se produce la síntesis de la cadena de ADN "menos", por transcripción inversa del pregenoma, y por último se sintetiza la cadena "más" utilizando como molde la cadena "menos".

El VHB se une a la superficie celular y penetra en la célula. Se cree que el core viral es transportado al núcleo de la célula sin ser procesado. El ADN viral circular asimétrico se convierte seguidamente en un ADNccc que parece actuar como molde para la síntesis del ARN viral. La integración del ADN del VHB en el genoma del huésped no se produce en el curso de la replicación normal, a diferencia de lo que ocurre con los retrovirus. La transcripción produce ARN de diversos tamaños, el más pequeño es de 0,7 kb y codifica la proteína X, otro de 2,1 kb codifica las proteínas principal y media de la envoltura viral, el de 2,4 kb codifica la pre-S1, la pre-S2 y el HBsAg y el más largo de 3,5 kb sirve de molde para la replicación del genoma y para la expresión de las proteínas pre/core y polimerasa. La síntesis de la cadena de ADN "menos" se inicia en el 3' DR1 (repeticiones directas cortas), con la proteína terminal de la polimerasa como cebador y, a medida que progresa la síntesis, el molde de ARN es degradado simultáneamente por la ARNasaH (enzima que degrada el molde de ARN para la replicación). La síntesis de la cadena "más" del ADN se inicia en el extremo 3' del DR2 y continua hasta pasar la proteína terminal del extremo 5' de la cadena "menos". Esto produce una molécula de ADN circular abierta similar a la del VHB maduro. Dado que la mayoría de las partículas de VHB contienen círculos de ADN abiertos con cadenas "más" incompletas, se ha planteado la posibilidad de que la polimerasa del virus esté limitada, de alguna forma, en este punto. Las partículas core maduras son empaquetadas entonces para formar el HBsAg/pre-S en el retículo endoplásmico y así son expulsadas de la célula. Se mantiene una cantidad estable de ADNccc en los núcleos mediante el transporte del ADN del VHB recién sintetizado de nuevo hacia el

núcleo. Dado que el HBsAg puede inhibir la formación del ADNccc, esto puede constituir una retroacción negativa para la replicación del VHB.

Variantes del VHB

Las mutaciones en el genoma del VHB pueden causar una infección que sea serológicamente atípica. La más común de estas variantes del VHB resulta de las mutaciones de uno o dos puntos en la región pre-C del genoma del VHB.

Los pacientes infectados con estas variantes poseen un perfil serológico caracterizado por: ADN-VHB y ADN polimerasa positivos, HBcAg positivo, HBsAg positivo, HBeAg negativo, anti-HBe positivo y niveles elevados de aminotransferasas.

VIRUS DE LA HEPATITIS C

Las evidencias clínicas y epidemiológicas, unido a los experimentos de inducción cruzada en chimpancés habían sugerido que existían varios agentes de la hepatitis no-A no-B (NANB) los cuales serológicamente no se vinculaban con el VHA o el VHB. No fue hasta 1989, que se logró la identificación del agente causal. El descubrimiento de una secuencia nucleotídica y su caracterización utilizando las técnicas de ingeniería genética, obviando los principios clásicos de la virología, permitieron establecer la etiología de la hepatitis NANB de transmisión parenteral, al que fue llamado virus de la hepatitis C.

El VHC pertenece a la familia *Flaviviridae*, y posee similitud con los virus que conforman el género *Flavivirus* o *Pestivirus*, recientemente se ha propuesto un género independiente para este agente, el cual tentativamente se ha llamado *Hepacivirus*. El virus posee un tamaño de 30 a 72 nm rodeado de una envoltura de glicoproteínas con espículas en su superficie.

Es un virus ARN de simple cadena, sentido positivo, con un genoma de 9,4 kb, el cual posee un único MAL que codifica para una gran poliproteína. El genoma consiste en una región 5' no codificante, un core (C), la envoltura (E o E1), una región que codifica para las proteínas no estructurales (NS) y una región 3' no codificante. La región NS consiste en 5 partes, NS1, NS2, NS3, NS4, y NS5. La región NS1, aunque llamada NS, se piensa que codifica parte de la envoltura, porque la región E o E1 es muy pequeña para codificar la proteína de la envoltura entera y porque hay muchos sitios de N-glicosilación en esta región. Por tanto, NS1 es además llamada E2. Otras regiones NS se piensa que codifican para proteasas dependientes de serina, ATPasa-helicasa (NS3) y ARN polimerasa ARN dependiente. (NS5). Estas proteínas virales pueden ser producidas por el clivaje de la poliproteína por proteasas virales y celulares (Fig. 63.3).

A falta de un sistema de cultivo celular para investigar diferencias en la neutralización

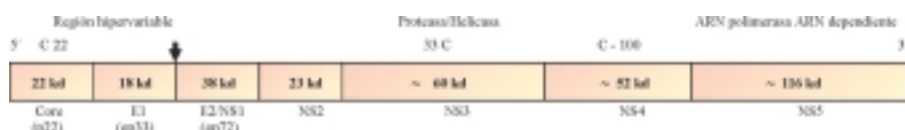


Fig. 63.3 Organización genómica del VHC.

y las propiedades citopáticas del VHC, las comparaciones entre las secuencias nucleotídicas y los ensayos de tipaje, se han convertido en las técnicas principales para caracterizar las diferentes variantes del VHC. La comparación de secuencias ha dado información acerca del virus a varios niveles. La identificación y la clasificación del VHC en diferentes genotipos han mostrado variedad en la distribución geográfica y en la epidemiología. En particular, la secuencia aminoacídica inferida de las glicoproteínas de la envoltura difiere considerablemente, y es probable que los anticuerpos elevados en respuesta a la infección

con un genotipo falle para neutralizar otros. Esta variación ha sido uno de los problemas a enfrentar en el desarrollo de vacunas.

La infectividad del VHC se destruye por extracción con cloroformo y mediante el calentamiento a 60°C durante 30 min.

Heterogeneidad genómica del VHC

El VHC posee una alta frecuencia de mutaciones, que es típica de los virus con genoma de ARN, las cuales no se distribuyen uniformemente a lo largo del mismo. La homología de la secuencia nucleotídica entre diferentes tipos y entre varios aislamientos del mismo tipo varió en diferentes regiones del genoma del VHC. La región 5' no codificante es altamente conservada (93-99 %). La región del core es bastante constante, estimándose la homología entre diferentes tipos en un 81 y un 96 % a nivel nucleotídico y en un 90 y un 98 % a nivel aminoacídico.

Algunas regiones del genoma muestran muy baja homología, por ejemplo, la región que codifica para la envoltura E y NS1/E2 y la región NS2. La región terminal 3' no codificante es también muy variable.

La secuencia aminoacídica de las regiones de la envoltura (E y NS1/E2) demostró una alta variabilidad, reportándose dos subregiones hipervariables (RHV 1 y 2) dentro de esta.

La variabilidad genómica del VHC ha llevado a su clasificación en genotipos, basada en la amplificación selectiva de regiones específicas del core y de la región NS5, esta última clasificación es de las más extendidas y útiles, por las ventajas prácticas que aporta y consiste en la división de los aislamientos en 6 genotipos (del 1 al 6), algunos de ellos subdivididos en subtipos (1a, 1b y 1c).

Implicaciones de la variabilidad genómica del VHC

Se desconocen muchos aspectos clínicos, epidemiológicos y terapéuticos relacionados con la variabilidad genómica del VHC, se ha estimado que posibles diferencias en el curso de la enfermedad asociado con diferentes genotipos, como la tasa de desarrollo de cirrosis, el carcinoma hepatocelular y la respuesta al tratamiento con interferón. Desde el punto de vista virológico, es imposible predecir cómo el grado de diferencia en la secuencia entre genotipos pudiera influir en el comportamiento del virus.

VIRUS DE LA HEPATITIS D

El VHD humano es único dentro del mundo animal. Se parece a los pequeños patógenos ARN de plantas llamados viroides. El VHD es un virus defectivo que necesita de la ayuda de un virus auxiliar, en este caso del VHB para su replicación y transmisión. En la sangre, la partícula infecciosa contiene antígeno delta (AgHD) rodeado por una envoltura de HBsAg. El tamaño del VHD es de 35 a 37 nm y posee una densidad de flotación de 1,24 a 1,25 g/mL. El genoma del VHD consiste en un ARN de 1,7 kb, circular, de simple cadena, que posee un alto grado de apareamiento interno y codifica para el AgHD; este no presenta homología con el genoma del VHB, pero se plantea que si puede inhibir la replicación del mismo. Este virus con frecuencia se vincula con las variantes más graves de hepatitis en los pacientes positivos al HBsAg.

El AgHD se ha sometido a tratamiento químico y enzimático. No pierde su actividad después de tratamientos con ácido etilendiaminotetraacético, detergentes, éter, nucleasas, glucosidasas, o ácido; pero se detectó pérdida parcial o completa de la actividad después de los tratamientos con álcali, tiocianato, clorhidrato de guanidina, ácido tricloroacético y enzimas proteolíticas.

El VHD se ha estudiado en modelos de animales, siendo los más usados el chimpancé y la marmota americana (*Marmotta monax*).

Replicación viral

En el hepatocito infectado, el ARN del VHD esta presente bajo su forma genómica y antigenómica, en una proporción de 5 a 30 (genómica) a 1 (antigenómica). El VHB y el VHD aunque poseen la misma envoltura, utilizan diferentes receptores para infectar al hepatocito. El mecanismo de replicación del VHD es en "círculo rodante", es decir, para cada cadena genómica y antigenómica, las cadenas multiméricas son autoclivadas en cadenas monoméricas, las cuales forman un círculo y son copiadas para dar lugar a una cadena multimérica complementaria. La cadena circular genómica es envuelta por HBsAg para formar las partículas infecciosas.

VIRUS DE LA HEPATITIS E

Otro virus originalmente clasificado como un agente NANB de transmisión entérica, en 1989 se identificó como el VHE. Este tipo de hepatitis fue primeramente reportado en Nueva Delhi, India en 1955, donde se identificaron 29 000 casos de hepatitis icterica debido a la contaminación fecal del agua potable de la ciudad. Pertenece a la familia *Caliciviridae*, es un virus pequeño, esférico, no envuelto, de un diámetro de 27 a 34 nm, su densidad en CsCl es de 1,35 g/cm³ y por inmunomicroscopia electrónica se ha observado que posee indentaciones en la superficie del virión. El genoma consiste en un ARN de cadena única, sentido positivo y de 7,5 kb de tamaño, el cual esta flanqueado por pequeñas secuencias no codificantes en los extremos 5' y 3'. Posee 3 MAL, el mayor (MAL1) esta localizado en el extremo 5' y codifica elementos no estructurales con actividad enzimática, el MAL2 situado en el extremo 3' controla la síntesis de las proteínas estructurales y el MAL3 es el más pequeño, se encuentra en una posición intermedia y expresa una proteína de función desconocida.

El VHE existe como un serotipo único, es decir, aislamientos del VHE de diferentes regiones geográficas comparten el mismo patrón antigénico y en las pruebas serológicas usuales reaccionan igual los sueros de personas convalecientes independientemente de su origen geográfico. Comparaciones en la secuencia nucleotídica revelaron que globalmente las cepas de VHE, parecen caer dentro de tres grupos genéticos: sudeste asiático (cepa Birmana y algunas cepas Indias), Asia Central y del Norte (cepas de China, Pakistán, Kirguizia y unas pocas de la India) y norteamericana (México). Con estos datos se ha planteado que la heterogeneidad genética está distribuida regionalmente, lo que sugiere que el VHE es un virus viejo, dispersado geográficamente en el pasado distante.

Como modelos animales se han usado los primates no humanos (*macacos Cynomolgus*, monos *Rhesus*, *marmosets*, *tamarins*, *chimpancés*, etc). Vertebrados no primates como cerdos domésticos jóvenes, corderos y ratas de laboratorio han sido susceptibles a la infección por el VHE. Desde el punto de vista epidemiológico, es notable señalar que anticuerpos anti-VHE se han encontrado en roedores salvajes que habitaban cerca de fuentes de agua potable, en un área rural endémica al VHE. Estos hallazgos implican la relación entre animales domésticos y quizás algunos salvajes en la perpetuación del virus, la interrogante de si la enfermedad es o no una zoonosis queda por investigar.

El VHE no crece bien en cultivos celulares convencionales, sin embargo, bajo ciertas condiciones experimentales parece ser capaz de propagarse en células cultivadas, por ejemplo, el co-cultivo primario de células de hígado y riñón procedentes de monos infectados con células de línea (FRhK4 y 4647). Investigadores chinos han logrado aislar una cepa de VHE en células 2BS y A549, esta última exhibió un efecto citopático marcado.

El VHE es estable en condiciones ambientales, por el contrario es lábil en condiciones de laboratorio y pierde su integridad después de proceder de rutina como la congelación y la descongelación, la sedimentación en soluciones salinas y la diálisis. Estos rasgos son inusuales para un agente el cual, bajo condiciones naturales, sobrevive en el ambiente a pesar de la exposición a condiciones desfavorables como la temperatura elevada, la radiación solar y los extremos osmóticos.

Replicación viral

En ausencias de sistemas de cultivo "*in vitro*", no se comprenden bien las estrategias de expresión y replicación del VHE. El mecanismo de unión, entrada y desnudamiento del VHE

no es conocido, pero se asume que el virus se une a sitios receptores sobre los hepatocitos y, posiblemente, células del intestino. Se ha propuesto la siguiente estrategia: los productos de los genes que codifican proteínas no estructurales son expresados presumiblemente por el genoma de sentido positivo en toda su longitud después de entrar en la célula. El primer paso es la generación de ambas cadenas negativas de ARN (cadenas antígenicas). El ARN antígenico puede conducir a la producción de ARN genómico adicional de longitud completa y a expresión de proteína no estructural, además para la producción de mensajes subgenómicos más pequeños. Esto inicia la segunda fase de la replicación viral, que es la producción de proteínas virales estructurales. La encapsidación de ARN genómico ocurre por la asociación con la proteína de la cápside.

INFECCIONES EN HUMANOS POR LOS VIRUS DE LAS HEPATITIS

PATOLOGÍA Y PATOGENIA

Microscópicamente hay degeneración en puntos en las células parenquimatosas con necrosis de los hepatocitos, reacción lobular inflamatoria difusa, y rotura de los cordones celulares del hígado. Estos cambios parenquimatosos se acompañan de hiperplasia de las células reticuloendoteliales (de Kupffer), infiltración periportal por células mononucleares y degeneración celular. Con frecuencia se observan zonas localizadas de necrosis con degeneración vacuolar o cuerpos acidófilos.

En la enfermedad avanzada hay acumulación de macrófagos que contienen lipofucsina, cerca de los hepatocitos en proceso de degeneración. Después del ensanchamiento o la necrosis de las células hepáticas puede ocurrir la rotura de los canaliculos biliares o del bloqueo de la excreción biliar. La conservación del esqueleto reticular permite la regeneración de los hepatocitos, de modo que en último término se puede recuperar la arquitectura muy ordenada del lobulillo hepático. El tejido hepático dañado habitualmente se restablece en 8 a 12 semanas.

De un 5 a 15 % de los pacientes la lesión inicial consiste en necrosis hepática confluyente (formación de puentes) con regeneración deficiente, lo que produce colapso del estroma. La presencia de esta lesión en los pacientes mayores de 40 años de edad frecuentemente presagia una evolución clínica precaria que conduce a cirrosis, fibrosis y muerte.

Se ha reportado como un rasgo histológico único en la hepatitis C crónica, la necroinflamación constante y una fuerte reacción linfocítica del tracto portal.

En la hepatitis E aguda es un rasgo casi constante la presencia de colestasis. Los portadores crónicos de HBsAg pueden o no mostrar evidencia de enfermedad hepática. La hepatitis viral persistente (no resuelta) es una enfermedad benigna leve que puede ser posterior a la hepatitis B aguda en 8 a 10 % de los pacientes adultos, y se caracteriza por valores esporádicamente anormales de aminotransferasas y hepatomegalia. Histológicamente, la arquitectura lobular se conserva con inflamación porta, hepatocitos edematosos y pálidos (arreglo en empedrado), y fibrosis leve o ausente. Esta lesión se observa con frecuencia en los portadores asintomáticos. En general, no evoluciona a cirrosis y tiene un pronóstico favorable.

La hepatitis crónica activa (agresiva) presenta una diversidad de cambios histológicos que van desde inflamación y necrosis hasta el colapso del esqueleto reticular normal con formación de puentes entre las triadas portales o las venas hepáticas terminales. Se observa HBsAg en el 10 a 50 % de estos pacientes. El pronóstico es reservado y con frecuencia la enfermedad progresa hasta cirrosis macronodular.

En ocasiones durante la hepatitis viral aguda, puede presentarse un daño más extenso que impide la regeneración ordenada de las células hepáticas. Esta necrosis hepatocelular fulminante o masiva se observa en el 1 a 2 % de los pacientes ictericos con hepatitis B. Es 10 veces más común en quienes presentan infección concurrente con VHD que en ausencia de este.

Ninguno de los virus de las hepatitis es clásicamente citopatógeno, y se cree que el daño celular observado en la hepatitis está mediado inmunológicamente, es decir, las células T citotóxicas sensibilizadas reconocen los antígenos virales coexpresados con el antígeno del sistema de histocompatibilidad HLA de clase I en la membrana celular, y así provocan la muerte a los hepatocitos con el objetivo de eliminar el virus de la célula huésped.

Los linfocitos no-T parecen intervenir en el mecanismo de lesión hepatocelular. Es probable que también participen citocinas. Se ha señalado un daño citopático del VHB, dado por la acumulación de proteínas virales en el retículo endoplásmico.

Es posible que el interferón desempeñe una función importante en la inmunopatogenia de la hepatitis B aguda, se piensa que las manifestaciones clínicas observadas en el período prodrómico (de tipo seudogripales) de la enfermedad se correspondan con la liberación de interferón, el cual iniciaría la puesta en marcha del proceso de lisis de los hepatocitos que albergan formas replicativas del VHB, este proceso es llevado a cabo por los linfocitos T citotóxicos.

Se ha planteado que en la infección por VHD interviene un mecanismo citopático directo y un mecanismo indirecto (respuesta inmunitaria citotóxica) igual que en el VHB.

Tanto el VHB como el VHC tienen funciones (presumiblemente indirectas) en el desarrollo del carcinoma hepatocelular que puede aparecer muchos años después (15 a 60) del establecimiento de una infección crónica.

MECANISMOS DE PERSISTENCIA VIRAL EN LAS HEPATITIS B Y C

En la hepatitis B, la persistencia viral está en relación, probablemente, con un fallo específico de células T para reconocer los antígenos del virus. También se ha planteado que el VHB puede reducir la sensibilidad celular al Interferón- α .

El VHC posee la habilidad de mutar rápidamente bajo la presión del sistema inmune, esto permite la existencia de diferentes variantes virales (quasiespecies) que le provee un mecanismo rápido de evasión al sistema inmune. Las mutaciones pueden resultar en partículas interferentes defectivas que se unen a los anticuerpos neutralizantes, quedando de esta forma las partículas replicativas libres.

El VHC puede regular su propia replicación y así permanece en el hígado en un estado quiescente. Todo esto permite al virus esconderse del huésped y protegerse del medio ambiente induciendo una enfermedad indolente, así la célula que nutre al virus es mantenida o solo lentamente destruida.

ASOCIACIONES E INTERACCIONES VIRALES

Aunque la hepatitis viral, en general, se debe a la infección con un agente viral específico, pueden presentarse asociaciones virales entre ellos o entre virus de diferentes familias. La hepatitis B, C, D y G al poseer similitudes en sus modos de transmisión y estar ampliamente distribuidos a nivel mundial, la co-infección con dos o más tipos de virus de las hepatitis es probable que ocurra frecuentemente, y esta coinfección puede influenciar en el curso de la enfermedad que resulta de la infección de uno o ambos virus.

Como la mayoría de los estudios de hepatitis involucran un solo tipo de virus, es relativamente poco lo que se conoce acerca de las interacciones entre los diferentes tipos. La superinfección con un agente puede influenciar en la replicación del primer virus, por ejemplo, la superinfección con el VHD decrece la replicación del VHB, la superinfección con el VHB, decrece la replicación del VHC. Los portadores del VHB tienen una alta tasa de mortalidad cuando se infectan con el VHE y tienen una forma clínica más severa cuando se infectan con el VHC.

Con la epidemia actual del SIDA, la asociación VHB/VIH, VHC/VIH y VHB/VHC/VIH son observadas con frecuencia, se ha reportado que la infección por VIH se asocia a una producción subóptima de interferón α que puede permitir una persistencia del VHB y reducir la agresión inmune en los hepatocitos infectados por el VHB, por otro lado el VHB puede potenciar la replicación del VIH, debido a que la proteína X del mismo puede transactivar la replicación del VIH. La asociación VHA/VHE ha de tenerse en cuenta por la similitud de las vías de transmisión.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las características clínicas y epidemiológicas de los virus de las hepatitis se resumen en el Cuadro 63.2.

Cuadro 63.2. Características clínicas y epidemiológicas de los virus de las hepatitis.

	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Hepatitis D	Hepatitis E
Periodo de incubación	15-45 días (promedio 30)	45-180 días (promedio 60-90)	40-120 días	En coinfección, similar a hepatitis B	15-45 días
Distribución por edades	Niños, adultos jóvenes	Adultos	Adultos	Adultos	15-45 años
Incidencia estacional	Todo el año, tiene un pico en el verano y otoño	Todo el año	Todo el año	Todo el año	Todo el año
Vías de transmisión	Fecal-oral	Parenteral, sexual y vertical (madre-hijo)	Predominantemente parenteral	Parenteral	Fecal-oral
Inicio de la infección	Brusca	Insidioso	Insidioso	Insidioso	Brusco
Complicaciones	Poco común, no cronicidad	Cronicidad en un 10%.	Cronicidad en un 50-80%	Cronicidad en un 15%	Poco común, no cronicidad.
Tasa de Mortalidad	< 0,5%	<1-2%	0,5-1%	?	20% en embarazadas
Inmunidad	Homóloga, persiste toda la vida	Homóloga, persiste toda la vida	Desconocida	Homóloga	?
Prevalencia	Elevada	Elevada	Elevada	Baja, regional	Regional
Enfermedad fulminante	Poco común	Poco común	Poco común	Frecuente	En el embarazo
Enfermedad crónica	Nunca	Frecuente	Frecuente	Frecuente	Nunca
Oncogenicidad	No	Si	Si	?	No

En casos individuales o esporádicos no es posible establecer una distinción clínica confiable entre los diversos casos producidos por los virus de las hepatitis. El curso de la hepatitis viral es extremadamente variable, y va desde una enfermedad inaparente o subclínica hasta anictérica o icterica y también puede ser fulminante.

Es probable que el curso y desenlace de la infección, esté relacionado con dos factores.

1. Duración y cantidad de replicación viral.
2. Rapidez y grado de la respuesta inmune del huésped al virus.

El periodo de incubación promedio para cada tipo de hepatitis varia, siendo de 10 a 50 días (promedio 30) en la hepatitis A y E, de 45 a 180 días (promedio 60 a 90) en la hepatitis B y de 40 a 120 días en la hepatitis C. Sin embargo, hay una considerable sobreposición en los tiempos, y en ocasiones el paciente no puede precisar cuándo ocurrió la exposición.

El inicio de la enfermedad tiende a ser brusca en la hepatitis A y E (antes de 24 h), en contraste con el inicio más insidioso en el tipo B.

En la infección aguda, el inicio de la ictericia va precedido de pródromos como náuseas, vómitos, anorexia, fiebre leve, astenia, fatiga, mialgias y dolor en hipocondrio derecho.

En el cuadro típico aparece el íctero caracterizado por coloración amarilla de piel y mucosas, orinas colúricas y heces acólicas, en este momento aparece el prurito. Los síntomas prodrómicos usualmente disminuyen.

La hepatitis anictérica es frecuente en los niños infectados por el VHA, en esta hay una sintomatología vaga, manifestaciones digestivas inespecíficas, fatiga y anorexia.

Las manifestaciones extrahepáticas de la hepatitis (principalmente en el tipo B) incluyen:

1. Pródromo transitorio similar a la enfermedad del suero, consistente en fiebre, erupción cutánea y poliartritis.

2. Vasculitis necrosante (poliarteritis nudosa).
3. Glomerulonefritis.

Como causa de estos síndromes se han sugerido complejos inmunitarios circulantes. Las manifestaciones extrahepáticas son poco habituales en la infección por VHA.

En la exploración física se puede constatar la ictericia, la hepatomegalia dolorosa y el endurecimiento del borde hepático. Con menor frecuencia encontramos esplenomegalia y linfadenopatía, especialmente cervical.

En la fase convaleciente hay sensación de bienestar, disminución de los síntomas y reaparición del apetito.

En la mayor parte de los pacientes con hepatitis A hay recuperación completa, sin tendencia a la cronicidad, la enfermedad es más grave en los adultos que en los niños, en quienes con frecuencia pasa inadvertida. Las recaídas pueden tener lugar entre 1 y 4 meses después que los síntomas iniciales se han resuelto. Se han descrito algunas manifestaciones atípicas de la infección por el VHA.

1. Hepatitis recidivante.
2. Hepatitis colestásica.
3. Con manifestaciones extrahepáticas.
4. Inducción de hepatitis autoinmune tipo I.

El resultado de la infección por el VHB varía desde la recuperación completa hasta evolución a hepatitis crónica y en ocasiones la muerte debido a enfermedad fulminante. En los adultos son inaparentes del 65 a 80 % de las infecciones y del 90 a 95 % de todos los pacientes se recuperan por completo. Por el contrario, de un 80 a un 90 % de los lactantes y niños pequeños de corta edad se convierten en portadores crónicos del virus.

Durante la hepatitis aguda a veces se desarrolla hepatitis fulminante, caracterizada por fallo hepático y coma. Es mortal en un 70 y un 90 % de los casos, con escasa supervivencia después de los 40 años de edad. La hepatitis fulminante por VHB frecuentemente se vincula a la superinfección con el VHD. La infección por VHE produce formas fulminantes en una tasa de un 1 a un 3 % en adultos y más de un 20 % en mujeres embarazadas, este estado conlleva a aborto y parto prematuro.

El VHC comúnmente causa una infección persistente y hepatitis crónica. El riesgo estimado de progresión a hepatitis crónica en los individuos infectados es de 60 a 80 %. Las manifestaciones de la enfermedad son mínimas en la mayoría de los infectados.

Las características de aquellos individuos que están más en riesgo de progresar a una enfermedad severa no está muy claro, pero puede incluir: edad al tiempo de adquisición, susceptibilidad genética, cofactores, como el consumo de alcohol o factores virales, la dosis infectiva, el orden de quasispecies o el genotipo viral.

Se han reportado diversos síndromes asociados a la infección por el VHC: Anemia aplásica asociada a hepatitis, crioglobulinemia esencial mixta y porfiria cutánea tarda.

La hepatitis delta se puede presentar clínicamente de dos formas: coinfección con el VHB o superinfección del VHD en un portador del VHB. Clínicamente es indistinguible las hepatitis agudas por coinfección VHB/VHD que aquellas debidas al VHB solo, generalmente tiene un curso clínico bifásico, con dos picos séricos de aminotransferasas relacionado con la replicación no sincrónica de los dos virus, se ha observado una frecuencia más elevada de hepatitis severas o fulminantes. En el caso de la superinfección, la preexistencia de células hepáticas produciendo HBsAg, es un terreno apropiado para la propagación del VHD, aquí el virus provoca una hepatitis aguda, que a veces tiene un curso resolutivo, pero lo más frecuente es el desarrollo de una hepatitis crónica. Cuando se instala la infección en un paciente que ya tenía hepatitis crónica, se produce una exacerbación del cuadro clínico e histológico, con evolución hacia formas más graves de hepatitis crónica incluida la cirrosis hepática.

La hepatitis crónica es un síndrome clínico patológico de diferente etiología y caracterizado por grados variables de necrosis hepatocelular e inflamación.

La clasificación etiológica incluye a los virus de las hepatitis B, C y D, de causa autoinmune, por drogas y criptogénica.

Por lo general, cursa con escasas manifestaciones clínicas, ocasionalmente puede evolucionar con picos de exacerbación. Es frecuente la evolución hacia la cirrosis y el carcinoma hepatocelular.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

En el Cuadro 63.3 se muestran los principales marcadores de los virus de las hepatitis y su interpretación.

El diagnóstico clínico de una hepatitis viral aguda o crónica se comprueba con estudios de laboratorio clínico, virológico y mediante el examen morfológico del hígado (macroscópico e histológico).

Tabla 63.3. Marcadores de infección de los virus de las hepatitis

Enfermedad	Marcador	Interpretación
Hepatitis A	VHA	Su detección en las heces significa infección actual
	Anti-VHA	Detectable al inicio de los síntomas. Persiste durante toda la vida
Hepatitis B	IgM anti-VHA	Indica infección actual o reciente. Positivo hasta 3 a 6 meses después de la infección
	ADN-VHB	Su presencia en el suero es el mejor indicador de replicación viral activa
	HBsAg	Indica infección aguda o si persiste más allá de 6 meses define un estado de portador
	HBeAg	Vinculado con la replicación del VHB y alta infectividad del suero
	HBcAg	Detectable solo en los hepatocitos infectados. Indica replicación viral
	Anti-HBs	Proporciona una inmunidad protectora. Indica la recuperación de una hepatitis B aguda o la inmunización con una vacuna
Hepatitis C	Anti-HBe	Aparece una vez que se ha eliminado el HBsAg. Indica que el virus ya no se está replicando
	Anti-HBc	Indica infección con VHB en algún momento no definido del pasado. Marcador de exposición
	IgM anti-HBc	Indica infección actual con el VHB. Útil en el período de ventana inmunológico del VHB
	ARN-VHC	Indica replicación del VHC
Hepatitis D	Anti-VHC	Indica infección pasada o actual con el VHC
	AgHD	Detectable al inicio de la infección aguda por el VHD
Hepatitis E	IgM anti-VHD	Indica infección actual por el VHD
	Anti-VHD	Indica infección presente o pasada con el VHD
	ARN-VHE	Su determinación en heces, bilis e hígado, indica infección actual
	IgM anti-VHE	Indica infección actual
	Anti-VHE	Indica infección pasada

DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO

La laparoscopia permite visualizar las alteraciones macroscópicas del hígado y la biopsia hepática permite conocer el grado de afectación histológica y por tanto, el pronóstico de la enfermedad.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO CLÍNICO

En la fase preictérica se encuentra leucocitosis ligera con neutrofilia, y en la fase icterica leucocitosis con linfocitosis relativa y eosinofilia.

Las pruebas de funcionamiento hepático anormal como alanino aminotransferasa (ALAT), la aspartato aminotransferasa (ASAT) y la bilirrubina complementan los datos clínicos, patológicos y epidemiológicos.

En la hepatitis aguda, los valores de la ALAT varían entre 500 y 2000 unidades y casi nunca son menores de 100. El Centro para el Control de Enfermedades (CDC) en Atlanta, EUA, estima que en la infección aguda las cifras de ALAT deben ser 2,5 veces por encima del valor normal.

La relación ASAT/ALAT se ha empleado como índice pronóstico. Si este está entre 0,31 y 0,63 indica una evolución favorable, en tanto, que una relación entre 1,20 y 2,26 indica un daño hepático grave.

Un aumento brusco de una corta duración (3-9 días) en la ALAT es más indicativo de hepatitis por virus A y E, en tanto, que un aumento gradual y prolongado (35 a 200 días) parece caracterizar las infecciones virales de la hepatitis B y C. En la infección por virus C se pueden encontrar diferentes patrones de comportamiento de la ALAT: en aguja, polifásica o en yo-yo y en meseta, lo cual parece estar relacionado con el desenlace de la infección.

Otros exámenes de laboratorio clínico son: la fosfatasa alcalina sérica, que puede estar ligeramente aumentada, valor que puede incrementarse en las formas colestásicas de la enfermedad, los lípidos totales que se encuentran elevados y los exámenes que monitorean la capacidad de síntesis hepática como los factores de la coagulación.

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO

Es quien verdaderamente nos ayuda a comprobar la sospecha clínica y epidemiológica de la etiología de la hepatitis viral. Las técnicas diagnósticas están encaminadas a:

1. Detección del virus o sus componentes.
2. Detección de anticuerpos circulantes en respuesta a la entrada del agente.

Hepatitis A

Los eventos clínicos, virológicos y serológicos subsiguientes a la exposición al VHA se muestran en la figura 63.4. Se han detectado partículas virales por inmuno-microscopía electrónica en los extractos fecales de los pacientes con hepatitis A, el cual aparece al final del periodo de incubación y desaparece antes de dos semanas después de iniciada la ictericia. Los títulos máximos del VHA se detectan en las heces alrededor de 1 a 2 semanas antes de la primera anomalía enzimática detectable. Su utilidad diagnóstica es limitada, debido a que su positividad después del debut clínico se mueve en un margen de tiempo muy estrecho y depende de la sensibilidad de la técnica utilizada. Un resultado negativo no excluye la infección, mientras que su positividad es señal inequívoca de infección actual.

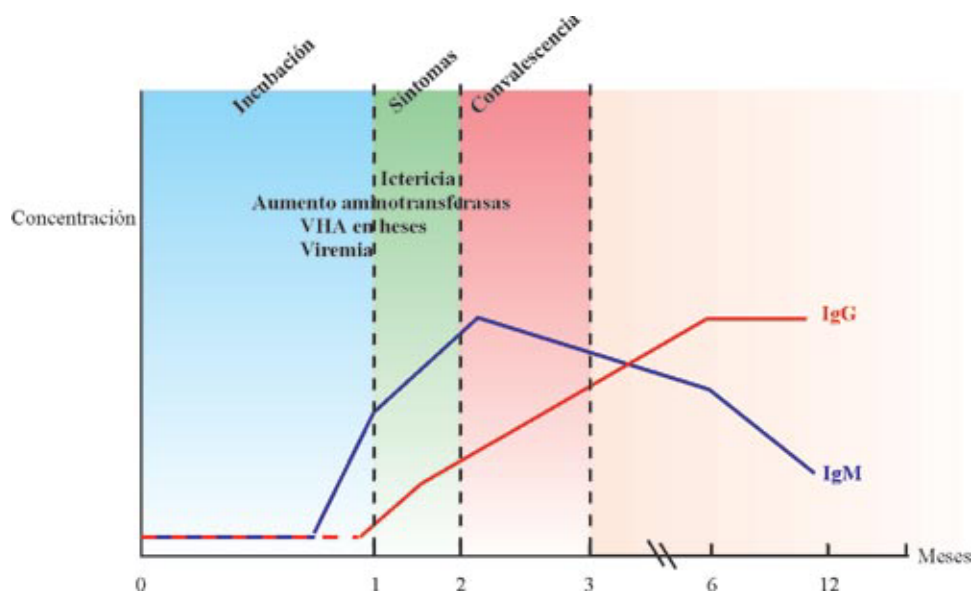


Fig. 63.4 Secuencia típica de los indicadores virales de una infección aguda por el VHA.

Es posible detectar el VHA en hígado, heces, bilis y sangre de humanos infectados mediante inmunoanálisis, siendo los más usados el radioinmunoensayo (RIA) e inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), el análisis de hibridación de ácidos nucleicos y la reacción en cadena de la polimerasa (RCP). El tipo de RCP más usada ha sido la captura del antígeno viral (CA) seguido de RCP (CA/RCP).

El anti-VHA aparece en su fracción IgM durante la fase aguda y alcanza su máximo casi dos semanas después del aumento de las enzimas hepáticas. La IgM anti-VHA, en general,

declina hasta concentraciones no detectables después de 3 a 6 meses del comienzo de la enfermedad. Puede persistir por más de 6 meses en el 25 % de los pacientes, y su detección más allá de 12 meses es un hallazgo inusual. Su presencia es indicativa de infección reciente. La IgM ha sido aceptada universalmente como el estándar de la infección por el VHA, estos anticuerpos están presentes en más del 99 % de los pacientes en el momento en que solicitan atención médica.

La IgG anti-VHA aparece tempranamente, alcanza su pico máximo en la fase convaleciente y con el tiempo reemplaza a la IgM, la IgG persiste durante décadas. Raramente se indica en la práctica médica. Su utilidad máxima está en el estudio de personal en riesgo para conocer su status inmune, en estudios seroepidemiológicos y en ensayos clínicos pre y posvacunales.

Como diagnóstico alternativo de la hepatitis A se han usado otros marcadores, como la IgA anti-VHA sérica y secretora (detectada en saliva), de utilidad durante los dos primeros años que siguen a la infección aguda. Se ha comprobado además la utilidad de la IgM anti-VHA en saliva y en orina, aunque con una sensibilidad menor que cuando se realiza en suero.

El RIA y el ELISA son las técnicas más ampliamente usadas en la detección de los anticuerpos anti-VHA.

HEPATITIS B

Los eventos clínicos y serológicos subsecuentes a la exposición al VHB con recuperación se muestran en la figura 63.5. La actividad de la ADN polimerasa, el ADN viral y el HBeAg, los cuales son representativos de la etapa virémica de la hepatitis B, se presentan tempranamente en el período de incubación de manera concurrente o poco después de la primera aparición del HBsAg. En la sangre pueden aparecer grandes concentraciones de partículas del VHB (hasta 10^{10} partículas/mL) durante la fase inicial de la infección. El HBsAg casi siempre es detectable 2 a 6 semanas antes de la evidencia clínica y bioquímica de hepatitis y persiste durante toda la evolución clínica de la enfermedad, pero típicamente desaparece al sexto mes después de la exposición.

Con frecuencia se detectan grandes concentraciones de IgM anti-HBc específica al inicio de la enfermedad clínica, aproximadamente 2 a 4 semanas después de la aparición de la reactividad al HBsAg. Puesto que este anticuerpo está dirigido al core de 27 nm del VHB, su aparición en el suero indica replicación viral, además, es el marcador más importante en el período de ventana inmunológica de la hepatitis B. El anticuerpo al HBsAg (anti-HBs), se detecta, por primera vez, durante un período variable después de la desaparición del HBsAg. Se presenta en concentraciones bajas. Antes de la desaparición del HBsAg, el HBeAg es sustituido por anti-HBe, lo cual señala el inicio de la resolución de la enfermedad. Las concentraciones de anti-HBe con frecuencia ya no son detectables después de 6 meses (Cuadro 63.4).

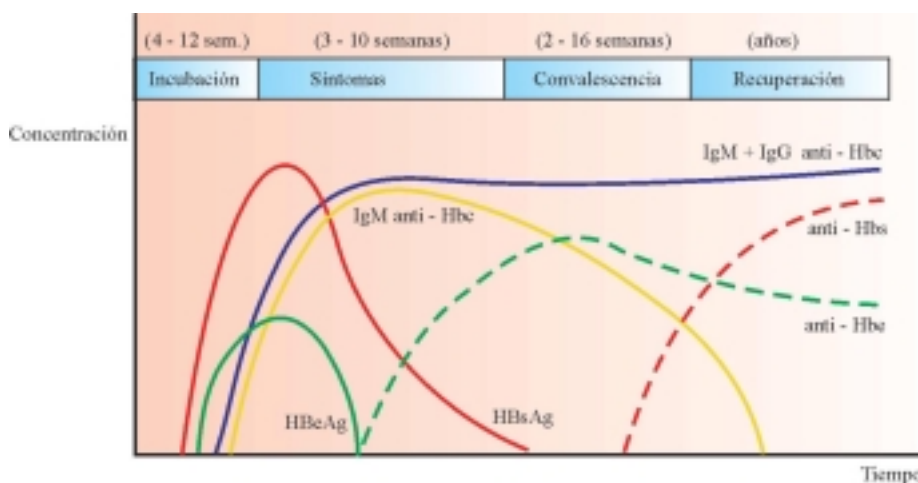


Fig. 63.5 Secuencia típica de los indicadores virales de una infección aguda por el VHB con recuperación

Por definición, los portadores crónicos del VHB son aquellos en quienes persiste el HBsAg por más de 6 meses, en presencia de HBeAg o de anti-HBe. El HBsAg puede persistir durante años después de la pérdida de HBeAg. La IgM anti-HBc es sustituida por la IgG anti-HBc, la cual persiste durante años como huella de la exposición al VHB.

Cuadro 63.4. Diagnóstico serológico de las diferentes fases de la hepatitis B

	Contagiosidad	HBsAg	Anti-HBc	Anti-HBc IgM	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe
Incubación	+	+	-	-	-	-	-
Aguda	+++	+	+	+	-	+/-	-/+
Recuperación/inmunidad	-	-	+	-	+	-	+
Portador crónico	+ /+++	+	+	-	-	+/-	-/+

Los métodos más sensibles para detectar antígenos y anticuerpos del VHB son el RIA y el ELISA. Otros análisis útiles son la microscopía electrónica, la inmunofluorescencia, la inmunohistoquímica, la hibridación "in situ" y la RCP.

En las Figuras 63,6 y 63,7 se muestran los patrones serológicos subsecuentes a la infección por VHD. En el patrón de coinfección (5), se detecta el AgHD y el ARN del VHD tempranamente en la fase aguda, se desarrollan anticuerpos al AgHD tardíamente en la fase aguda de la infección y puede haber títulos bajos, estos anticuerpos son de tipo IgM, que posteriormente son sustituidos por la IgG anti-VHD. Los marcadores de replicación desaparecen durante la convalecencia.

En la superinfección (6) por VHD, habitualmente se produce una infección persistente por VHD (más del 70 % de los casos). Persisten los aumentos de la IgM anti-VHD y de la IgG anti-VHD, al igual que el ARN del VHD y el AgHD.

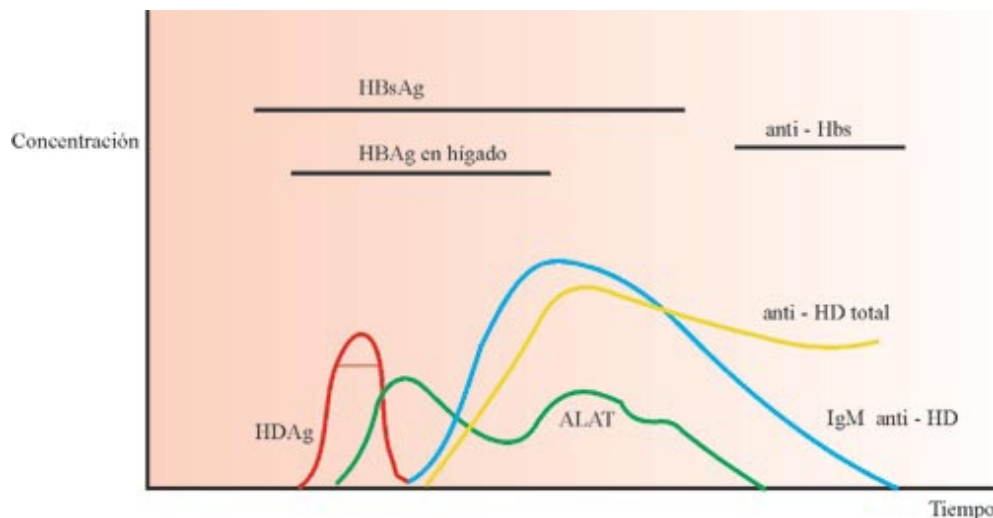


Fig. 63.6 Secuencia típica de los indicadores virales de una infección aguda por coinfección VHB-VHD.

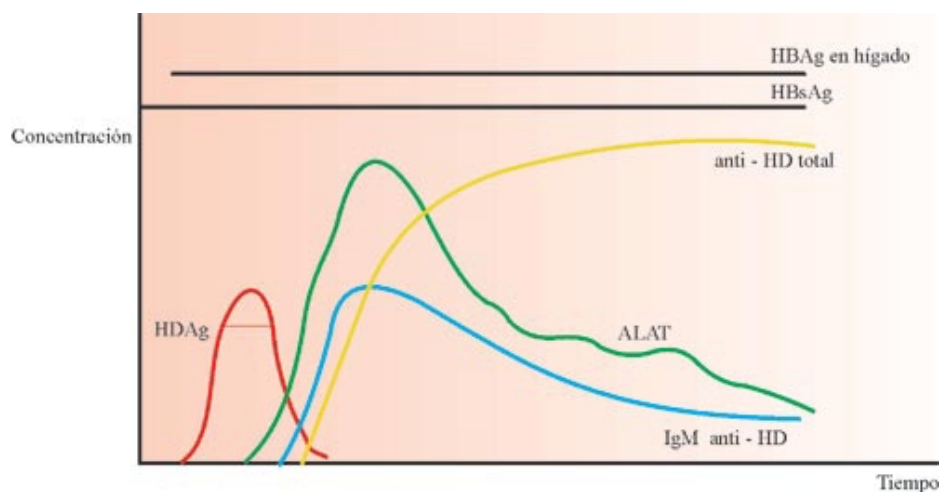


Fig. 63.7 Secuencia típica de los indicadores virales de una sobreinfección con el VHD.

HEPATITIS C

El diagnóstico de la infección se realiza a través de la detección de los anticuerpos anti-VHC y del ARN viral mediante técnicas de amplificación (RCP). Utilizando las técnicas de ingeniería genética se han obtenido proteínas recombinantes y péptidos sintéticos, que han permitido el desarrollo de sistemas diagnósticos tipo ELISA y Western Blott, los cuales se han ido modificando y mejorando su sensibilidad a la par que se añadían nuevos antígenos procedentes de las regiones estructurales y no estructurales del virus. Actualmente, se utilizan sistemas de tercera generación que poseen una buena correlación con la presencia de ARN viral, no obstante todavía quedan problemas relacionados con la especificidad del sistema.

La presencia de anticuerpos no constituye por si sola una demostración directa de la presencia y replicación viral, y es solamente la detección del ARN viral quien puede confirmar la infección. A pesar de la gran variabilidad genética del VHC, si se escoge una región conservada se puede determinar el ARN viral hasta en un 95 % de los casos, una de las zonas más usadas es la 5' no codificante. El ARN viral puede ser cuantificado usando una técnica conocida como Branched DNA (ADN ramificado), lo cual tiene gran importancia en el monitoreo de esquemas de terapia con interferón, estudios de transmisión viral y relación entre carga viral y valores de ALAT.

HEPATITIS E

Al igual que el VHC, la ausencia de antígenos naturales, conllevó al desarrollo de sistemas diagnósticos usando antígenos recombinantes. Los antígenos más usados provienen del MAL 2 (proteínas estructurales) y del MAL 3. Las técnicas más usadas han sido el ELISA y el Western Blott y se pueden detectar tanto la IgM como la IgG anti-VHE.

La inmunomicroscopia electrónica y la inmunofluorescencia se han utilizado en el diagnóstico y la investigación del VHE, aunque de uso limitado en la práctica. La RCP para la detección del ARN del VHE en heces, hígado y bilis tiene utilidad diagnóstica, así como en la búsqueda de nuevos aislamientos con fines investigativos.

EPIDEMIOLOGÍA

Existen notables diferencias en las características epidemiológicas de las infecciones por los virus de las hepatitis, algunos de ellos se encuentran resumidos en el Cuadro 63.2.

HEPATITIS A

Aunque la infección por el VHA no causa infección crónica y la mortalidad es rara, si es causa de una importante morbilidad en muchas partes del mundo. Los brotes de hepatitis A son comunes en instituciones cerradas como guarderías, escuelas, unidades militares, campos de veraneo, etc, también pueden ocurrir brotes explosivos en población abierta, casi siempre relacionados con la contaminación de la fuente de abasto de agua. El consumo de ostras crudas o de almejas cocidas de manera inapropiada procedentes de aguas contaminadas con aguas negras, también ha producido brotes de hepatitis. Se ha reportado la ocurrencia de brotes a partir de primates no humanos, principalmente chimpancés, que transmitieron la enfermedad a sus cuidadores. La forma de transmisión en estas condiciones es la ruta fecal-oral a través de un estrecho contacto personal. Las heces pueden contener más de 10^8 viriones infecciosos por mililitro y es la primera fuente de infección del VHA, la saliva y el suero también pueden contener virus infecciosos, pero estas rutas no son comunes. Las concentraciones virales son altas a finales del período de incubación, persistiendo hasta 1 a 2 semanas después de comenzada la ictericia.

Se han reportado brotes de hepatitis A en hemofílicos, como consecuencia del VHA residual en preparaciones de factor VIII tratadas con solventes orgánicos y detergentes.

La infección por el VHA tiene lugar en la primera infancia en condiciones de hacinamiento y falta de higiene, en estas circunstancias la mayoría de los niños ya son inmunes alrededor de los 10 años de edad. La enfermedad clínica es poco común en los lactantes y niños de corta edad, la severidad del cuadro clínico aumenta con el incremento de la edad, con tasas

mayores en el grupo de 5 a 14 años de edad. En los adultos, la proporción entre casos anictéricos e ictericos es alrededor de 1:3, en los niños puede aumentar hasta 12:1. La mortalidad es baja (<0,5 %).

Una sola infección por VHA induce protección duradera. Existe un solo serotipo mostrado por el estudio de cepas del VHA aisladas en varias partes del mundo, no obstante, la neutralización cruzada ha indicado pequeñas diferencias antigénicas entre cepas virales. Sin embargo, existen variaciones en la secuencia nucleotídica de cepas de hepatitis A aisladas de diferentes áreas geográficas del mundo, esto ha llevado a una clasificación en genotipos y subgenotipos. Estudios de epidemiología molecular a escala mundial han permitido plantear la existencia de poblaciones endémicas del VHA, además, que en países con un alto nivel de salud pública como Suecia, Alemania y Suiza, la transmisión endémica del virus es muy pequeña y la mayoría de los casos se deben a cepas importadas de otras regiones. En Cuba, ha sido clasificada la primera cepa aislada, la cual quedo dentro del genotipo IA, juntamente con el grupo de las demás cepas americanas, pero esta ha sido clasificada como una cepa independiente, ya que presenta un cambio aminoacídico no representado en ninguna de las otras cepas de su genotipo.

A escala mundial se han descrito tres patrones de seroprevalencia:

Patrón A: De regiones hiperendémicas (30-100 casos al año/100 000 habitantes). Prácticamente toda la población mayor de 10 años es inmune.

Patrón B: De áreas en vías de desarrollo (20-30 casos al año/100 000 habitantes). Los adolescentes y adultos jóvenes son inmunes.

Patrón C: Países desarrollados (<20 casos al año/100 000 habitantes). Los niños y jóvenes son susceptibles. Los anticuerpos predominan solamente en la población más vieja.

Prevención de la infección por el VHA

La principal medida para prevenir la infección es el mejoramiento de las condiciones higiénico-sanitarias de la población, las fundamentales son: potabilización o cloración del agua, la higiene personal y ambiental, correcta disposición de los desechos líquidos y sólidos y la educación comunitaria.

Profilaxis pasiva. La globulina inmune es efectiva en un 80 y un 90 % para prevenir la hepatitis clínica, cuando se administra antes de la exposición o tempranamente en el período de incubación.

Profilaxis activa. Ya se encuentran licenciadas vacunas inactivadas, como la Havrix, de la firma Smith-Kline Beecham (SKB), Vaqta, de la firma Merck Sharp & Dohme (MSD), Avaxim de la firma Aventis Pasteur, etc., las cuales son altamente inmunogénicas, induciendo altos títulos de anti-VHA. La Organización Mundial de la Salud (OMS) aconseja vacunar a la población de riesgo, como viajeros jóvenes que se dirijan a zonas de alta endemicidad, manipuladores de alimentos, deportistas con viajes frecuentes, trabajadores sanitarios, personal de instituciones para deficientes mentales, militares y personas que desempeñan ayudas humanitarias en áreas de mayor endemicidad, adictos a drogas por vía parenteral, homosexuales, personal de limpieza y recogida de basuras o personal y niños de guarderías.

HEPATITIS B

El VHB se distribuye en todo el mundo, existiendo zonas de baja, intermedia y alta prevalencia de la infección de acuerdo con la positividad al HBsAg (> de 8 %, alta, de 2 a 7 %, intermedia y < de 2 %, baja). El modo de transmisión y la respuesta a la infección varían según la edad en el momento de la infección. De un 80 a un 90 % de las personas infectadas al nacimiento desarrollan infección crónica, esta proporción va disminuyendo a medida que aumenta la edad (25-50 % en los infectados entre 1-5 años y de un 5-10 % en los mayores). Existen más de 350 000 000 de portadores en el mundo, el 25 % de estos desarrolla hepatitis crónica activa. En todo el mundo se atribuyen un 1 000 000 de muertes al año a la enfermedad hepática y al carcinoma hepatocelular vinculados con el VHB.

La infección por VHB no muestra tendencia estacional y tampoco mayor predilección por algún grupo de edad, aunque hay grupos definidos de mayor riesgo como adictos a

drogas parenterales, personas con retraso mental alojadas en instituciones, personal de atención a la salud, pacientes sometidos a múltiples transfusiones sanguíneas, pacientes con trasplante de órgano, pacientes de hemodiálisis y personal que los atiende, personas muy promiscuas y lactantes recién nacidos de madres portadoras del HBsAg.

Los casos de hepatitis B aparecen de forma esporádica y con frecuencia se vinculan con la inoculación parenteral de sangre humana infectante o de sus productos, habitualmente obtenida de un portador aparentemente sano. Muchas personas se han infectado con agujas o bisturíes esterilizados de manera inapropiada, o incluso por tatuajes y perforación del lóbulo de la oreja. La proporción estimada entre las infecciones anictéricas y las ictericas puede ser hasta de 4:1, la infección subclínica es común.

Se puede detectar el HBsAg en saliva, lavado nasofaríngeo, semen, líquido menstrual y secreciones vaginales, de ahí que pueda presentarse la transmisión de los portadores a los contactos cercanos por vía oral, o mediante contacto sexual u otra exposición íntima. Existe evidencia fuerte de la transmisión entre compañeros homosexuales masculinos. No se ha comprobado la transmisión por la ruta fecal-oral. Si tenemos en cuenta que pueden existir más de 1 000 000 000 de viriones por mililitro de sangre en los portadores positivos al HBeAg y que el virus es resistente a la desecación, debemos asumir que pueden ser infectantes todos los líquidos corporales de los pacientes con infección por VHB.

La transmisión vertical (perinatal) en madres portadoras del HBsAg es otra de las vías más comunes de infección, que será muy baja durante la gestación, pero, aumenta en el paso del feto por el canal del parto.

Prevención de la infección por el VHB

El primer nivel para evitar el contacto con el virus es una adecuada y continua información a toda la población y más concretamente a los grupos de mayor riesgo. El segundo nivel consiste en destruir el virus mediante adecuadas técnicas de esterilización y desinfección, el tercer nivel es el pesquisaje de los productos sanguíneos y sus derivados y el cuarto nivel es la prevención pre y posexposición mediante la utilización de productos inmunobiológicos.

Profilaxis pasiva. Se realiza por la administración de la gamma globulina hiperinmune a hepatitis B, la cual posee títulos elevados de anti-HBs.

Profilaxis activa. La vacunación universal antihepatitis B y su inclusión en el Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI), ha sido la estrategia que mayor impacto ha logrado en el control de la enfermedad, ya que la vacunación a los grupos de riesgo solamente no tuvo el resultado esperado.

Actualmente se encuentran disponibles comercialmente vacunas ADN-recombinante, que han mostrado gran respuesta inmunogénica y poca reactogenicidad, entre ellas se encuentran la Engerix B de la firma SKB, la H-B-VAX de la firma MSD y la Hepativax de la casa Pasteur Merieux Connaught. El Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) de Cuba, produjo en 1989, una vacuna recombinante (HEBERBIOVAC-HB), que ha demostrado ser altamente inmunogénica y posee una efectividad de un 95 % en hijos de madres positivas al HBsAg. Esta vacuna está incorporada al esquema de vacunación infantil y además, se han vacunado los grupos de alto riesgo de infección. Actualmente la población cubana menor de 18 años se encuentra inmunizada contra la infección por el VHB.

El esquema de inmunización es de dos formas. Un esquema general que es de 3 dosis con intervalos de 1 y 6 meses desde la administración de la primera (0, 1 y 6) y un esquema para las personas en riesgo que es de 4 dosis con intervalos de 1 y 2 meses, seguido de un refuerzo a los 12 meses (0, 1, 2 y 12). La dosis es de 10 µg para los menores de 10 años de edad y de 20 µg para los mayores, en situaciones de especial compromiso inmune se prefiere duplicar la dosis. La vía de administración es la intramuscular.

Profilaxis de posexposición. La exposición accidental a sangre debe ir seguida del cumplimiento de un protocolo que se procederá en función de la fuente infectante (sangre positiva al HBsAg, negativa o desconocida) y el status inmune del accidentado. En general se siguen las recomendaciones que se exponen en los Cuadros 63,5 y 63,6.

Cuadro 63.5. Recomendaciones después de la exposición perinatal y sexual al VHB

Exposición	HBIG	Vacuna
Perinatal	0,5 mL, IM, en las primeras 12 h del nacimiento	10µg, IM, en las primeras 2 h del nacimiento, repetir en los meses 1 y 6
Sexual	0,06 mL/kg, IM, dosis única en los primeros 14 días del último contacto sexual	20 µg, IM, recomendado para varones homosexuales y contactos sexuales regulares de los portadores del VHB, opcional en contactos heterosexuales de personas con VHB

Cuadro 63.6. Recomendaciones para la profilaxis de Hepatitis B después de exposición percutánea

Fuentes	No vacunada	Vacunada
HbsAg-positivo	1. HBIG una vez, de inmediato 2. Iniciar esquema de vacunación para HB	1. Someter a la persona expuesta a prueba para anti-HBs 2. Si los anticuerpos son inadecuados, administrar HBIG una vez más 1 dosis de refuerzo de vacuna HB
Fuente conocida Alto riesgo HBs Ag-positivo	1. Iniciar esquema de vacunación para HB	1. Someter a la fuente a prueba para HbsAg solo si la persona expuesta no respondió a la vacuna; si la fuente es HbsAg positiva, administrar inmediatamente HBIG una vez más de 1 dosis de refuerzo de vacuna HB
Bajo riesgo HBs Ag-positivo	Iniciar esquema de vacunación para HB	No se requiere nada
Fuente desconocida	Iniciar esquema de vacunación para HB	No se requiere nada

HEPATITIS C

La infección por el VHC está muy extendida por todo el mundo. En 1997, la OMS estimó que cerca de un 3 % de la población está infectada, con subgrupos de población en África que muestran tasas de prevalencia de un 10 %. Se estiman en una cifra mayor de los 170 000 000 a los portadores crónicos en todo el mundo, en riesgo de desarrollar cirrosis hepática, cáncer de hígado o ambas cosas. La tendencia de la infección es a ir aumentando en los próximos años (juntamente con la epidemia de SIDA), a pesar de que se cuentan con métodos de pesquisaje de la sangre altamente sensibles.

El VHC se transmite de manera muy parecida al VHB, pero en la mitad de los casos no se conoce la fuente de infección (referida como esporádica o contraída en la comunidad). En orden decreciente, las vías de transmisión del VHC son: compartir agujas contaminadas (en especial por drogadictos), propagación dentro de una familia (intrafamiliar), a través de la sangre o sus derivados, lesiones con agujas contaminadas en situaciones ocupacionales, transmisión sexual y transmisión vertical de la madre al recién nacido. Estas dos últimas situaciones no son tan frecuentes como con el VHB, siendo más frecuentes en la coinfección VIH/VHC donde existe una elevada carga viral.

Prevención de la infección por el VHC

No se encuentran disponibles vacunas para prevenir la infección y es todavía lejana la producción de un inmunógeno, entre otros motivos por la heterogeneidad genómica del virus. El pesquisaje de la sangre y sus derivados, así como la educación sanitaria, son los puntos en que debe basarse básicamente la prevención de la infección.

HEPATITIS DELTA

El modo de transmisión del VHD es similar al del VHB, siendo la exposición percutánea la más eficiente. La transmisión sexual es menos eficiente y la perinatal es rara. Los grupos de población más afectados son los drogadictos por vía parenteral, hemofílicos y, en general, los portadores crónicos del VHB.

El patrón global de distribución de la hepatitis delta se corresponde con la prevalencia de la infección crónica por el VHB, sin embargo, existen diferencias en la distribución del VHD. En países con moderada y alta tasa de infección con el VHB, la prevalencia del VHD es

variable. En el sur de Italia, Rusia y Rumania la prevalencia de VHD es muy alta. Otros países, incluyendo el norte de Italia, España, Turquía y Egipto, muestran una moderada prevalencia. Muchos países del Sudeste Asiático y China, a pesar de tener una prevalencia del VHB muy alta, la infección por VHD es poco común. En algunas regiones de Sur América, cerca del río Amazonas o la cuenca del Orinoco, epidemias periódicas de infección con el VHD se han reportado, estos brotes han sido de curso severo, a menudo progresando a hepatitis fulminante con tasas de mortalidad de un 10 y un 20 %. La causa de este curso atípico no es bien conocido.

Debido a que el VHD depende del VHB para replicarse, la infección VHB/VHD puede ser prevenida con las medidas de profilaxis pre o posexposición con el VHB. En los portadores crónicos del VHB la educación encaminada a reducir los riesgos de una sobreinfección es de gran importancia.

HEPATITIS E

Debido a que las pruebas diagnósticas de detección de la infección por el VHE han sido recientemente desarrolladas, no se conoce la prevalencia global de la infección. Se conoce que afecta fundamentalmente a países en vías de desarrollo de la zona tropical del planeta. Entre los países que han reportado se encuentran: Repúblicas de Asia Central, China, India, Pakistán, Nepal, Myanmar, Indonesia, Etiopía, Sudán, Somalia, Argelia, Senegal, Costa de Marfil y en Latinoamérica se han reportado en México, Venezuela, Cuba, Bolivia, Perú, Brasil, Nicaragua, Chile, Guyana Francesa, Uruguay, etc.

Posee un patrón estacional, que se incrementa durante o después de la época de lluvias en el Sudeste Asiático y durante el final del otoño en Asia Central.

La infección por el VHE tiene rasgos epidemiológicos distintivos como es la alta tasa de ataque en individuos de 15 a 45 años de edad, la alta letalidad en embarazadas (20 %), la alta incidencia de infección en adultos masculinos, la diseminación limitada de la infección alrededor del caso (persona infectada) en el hogar, comunidades u hospitales (baja tasa de ataque secundario). En un estudio realizado en Kenya se demostró que la aparente baja frecuencia de la enfermedad en grupos etáreos jóvenes es debido al resultado de infecciones anictéricas, estimando que la presencia de enfermedad icterica se incrementa con la edad.

El modo de transmisión fecal-oral es el más documentado, el contacto persona-persona no ha sido claramente identificado.

TRATAMIENTO

El tratamiento de los pacientes con hepatitis viral aguda es de apoyo y está dirigido a permitir que el daño hepatocelular se resuelva y repare por sí mismo.

Se han usado sustancias antivirales como la ribavirina, un análogo de la guanosina, que acorta el período de inflamación hepática en la hepatitis A. Deben evitarse el uso de medicamentos hepatotóxicos y el consumo de alcohol.

En la actualidad, la única terapéutica con utilidad demostrada en el tratamiento de la hepatitis B crónica es el interferón α .

Varios antivirales están bajo prueba contra las infecciones crónicas por VHB. La lamivudina, un inhibidor de la transcriptasa inversa, reduce la concentración del ADN del VHB, pero en la mayoría de los pacientes se reinicia la replicación del virus al detener el tratamiento. El ganciclovir y el foscarnet han mostrado cierta actividad contra el VHB.

Un nuevo tratamiento, al parecer promisorio contra la hepatitis C crónica es una combinación de interferón α 2b y ribavirina. La amantadina y su análogo estructural, la rimantadina, han demostrado algunos éxitos, pero requieren confirmaciones futuras. La triterapia usando interferón, ribavirina y amantadina, ha resultado de utilidad en un estudio piloto realizado hace poco.

Recientemente, se ha asociado el interferón α 2a al polietileno glicol (PEG-IFN) con resultados alentadores.

El trasplante hepático es una opción en los pacientes con hepatitis crónica descompensada.

OTROS VIRUS CAUSANTES DE HEPATITIS

Antes de 1989, observaciones clínicas y epidemiológicas de pacientes con hepatitis NANB sugirieron que la etiología viral era responsable de muchos casos de cirrosis criptogénica. Con el descubrimiento del VHC, más de la tercera parte de los pacientes con enfermedad hepática crónica criptogénica y la mayoría de los casos de hepatitis NANB asociados a transfusiones fueron explicados. Sin embargo, a pesar de la identificación del VHC, la etiología de algunas enfermedades hepáticas crónicas quedó sin explicación y los investigadores se preguntaron si otros agentes virales estarían involucrados.

VIRUS DE LA HEPATITIS G

El agente de la hepatitis GB aislado, en 1967, de un paciente con hepatitis aguda (de iniciales G.B.), fue propagado en monos *Saginus mystax*, y dos nuevos agentes de la familia *Flaviviridae* conocidos como hepatitis GB virus A (GBV-A) y hepatitis GB virus B (GBV-B) fueron reportados. Otro virus relacionado llamado hepatitis GB virus C (GBV-C) fue aislado de pacientes con hepatitis no A - E en África, Canadá y los Estados Unidos, este posee una secuencia similar a un virus recientemente reportado y designado como virus de la hepatitis G, ambos, GBV-C/VHG son considerados genotipos diferentes de un mismo virus.

El virus de la hepatitis G (VHG) es un nuevo virus descubierto, relacionado con virus de la familia *Flaviviridae* y cubierto por una capa de lipoproteína. Posee un genoma ARN de simple cadena, sentido positivo y compuesto por 9 392 nucleótidos, que codifica para una poliproteína de 2 893 aminoácidos, los genes que codifican para las proteínas estructurales y no estructurales se localizan en los extremos 5' y 3' respectivamente.

El análisis de pacientes con hepatitis NANB adquirida en la comunidad demostró que el VHG puede causar viremia persistente por más de 9 años en aproximadamente un 50 % de los casos y que el mismo está asociado con el 0,3 % de los casos de hepatitis.

La infección con el VHG puede ser transmitida por transfusión, mostrado por la detección del ARN del VHG solo en pacientes transfundidos y por la baja frecuencia de la infección del VHG en el grupo control, además por la alta frecuencia de la infección observada en grupos de riesgo como hemofílicos, pacientes en hemodiálisis mantenida y drogadictos por vía intravenosa. La coinfección del VHG con los VHB y VHC ocurre frecuentemente.

Usando la RT-RCP para determinar la prevalencia del ARN del VHG en donantes de sangre en los Estados Unidos se encontró una tasa de infección de 1,7 %, en Alemania 1,2 %, en Japón 1,3 % y en Francia 4,2 %.

Se han realizado numerosos reportes sugiriendo una asociación del VHG con hepatitis aguda, enfermedades hepáticas criptogénicas, anemia aplásica asociada con hepatitis, inmunodeficiencia variable y hepatitis postransfusional. Existen reportes contradictorios acerca de la posible asociación del VHG con hepatitis fulminante.

Además de la transmisión parenteral, el VHG puede ser transmitido sexualmente y de la madre infectada a su descendencia. La distribución geográfica del VHG no es todavía conocida.

El diagnóstico de la infección por el VHG puede realizarse a través de la detección del ARN viral mediante la RT-RCP y por la determinación cualitativa de anticuerpos de la clase IgG, usando antígenos recombinantes de la región estructural (E2) del virus. La respuesta anti-E2 parece estar asociada con la pérdida de cantidades detectables del virus en los infectados, de ahí que puede servir como un marcador útil para el diagnóstico de la recuperación de infecciones por el VHG.

La mayoría de los individuos infectados no poseen evidencia clínica o bioquímica de enfermedad hepática.

El VHG no ha demostrado especificidad apropiada, y es difícil de afirmar si esto desempeña una función causal en la hepatitis criptogénica, en la cirrosis o si es solamente un asistente inocente en un proceso debido a un agente todavía no descubierto o a alguna causa de etiología no viral.

VIRUS TT

El desarrollo de ensayos de pesquisaje para la infección por el VHC, fue un paso de avance en la prevención de la hepatitis postransfusional. A partir de entonces se han realizado esfuerzos sustanciales para continuar la búsqueda de otros agentes infecciosos responsables de los casos residuales. Hallazgos recientes indican que la infección con el VHC, aunque ampliamente distribuido, no era el agente etiológico involucrado en las hepatitis postransfusionales No A-C y en el fallo hepático fulminante y la hepatitis crónica criptogénica.

En 1997, un nuevo virus (VTT) fue identificado en un paciente con hepatitis postransfusional No A-C. TT representa las iniciales del paciente del cual el virus fue primeramente aislado y no el acrónimo de "*transfusion-transmitted*".

El VTT posee un genoma de 3 739 pb, de simple cadena, se han podido identificar dos posibles MAL, capaces de codificar 770 y 202 aminoácidos respectivamente, su densidad es de 1,26 g/cm³ en sacarosa, que no cambia después del tratamiento con Tween 80. Recientes estudios han indicado que el VTT posee un tamaño de 30 a 50 nm y que es una partícula no envuelta.

Las características expuestas anteriormente, han enmarcado al VTT dentro de la familia *Parvoviridae*, aunque recientemente se ha reportado una similitud con los virus de la familia *Circoviridae*, conocidos por infectar plantas y vertebrados, por ejemplo, pájaros y cerdos.

Utilizando la RCP, con *primers* de la región conservada del genoma del VTT, se detectó una prevalencia de 1,9 % en donantes de sangre procedentes del Reino Unido. La infección ocurrió más frecuentemente en donantes de mayor edad (promedio 53 años).

Se detectó además contaminación viral en el 56 % de los lotes de concentrados de factor VIII y IX y en el 44 % de productos hemoderivados disponibles comercialmente.

En pacientes hemofílicos se encontró una positividad de un 27 %, la cual se incrementa con la severidad de la enfermedad y/o la cantidad de factores de la coagulación recibidos.

Los estudios realizados demuestran que la viremia por VTT es frecuente en la población (donantes de sangre) general, lo cual sugiere una transmisión no parenteral.

El ADN viral fue estudiado en muestras de hígado de pacientes infectados, encontrándose que todas las muestras analizadas tenían títulos iguales o mayores que su homólogo sérico.

Comparando una secuencia de 356 pb entre 78 aislamientos procedentes de portadores sintomáticos y pacientes con cuadros de hepatitis viral, dos grupos genéticos fueron encontrados con una diferencia de un 30 % y fueron tentativamente nombrados G1 y G2. Esos grupos genéticos a su vez fueron divididos en subgrupos que difieren en un 11 y un 15 % entre ellos, y fueron designados como G1a y G1b así como G2a y G2b.

En estudios realizados en sueros de primates no humanos, se encontró una alta incidencia de infección por el VTT.

SEN-V

A mediados del año 1999, investigadores italianos, descubrieron una nueva familia de virus que parecen ser responsables de muchos casos de hepatitis viral de origen inexplicable. La nueva secuencia nucleotídica, que tentativamente ha sido llamada SEN-V NANE (SEN-virus) por las iniciales del hombre en cuya sangre fue primeramente detectado, fue amplificado del plasma de un paciente VIH positivo y drogadicto por vía endovenosa. Esta secuencia no presentaba ninguna similitud con ninguna de las reportadas en las bases de datos disponibles en la actualidad.

Igual secuencia fue encontrada en otros drogadictos por vía endovenosa y en pacientes politransfundidos, pero en muy bajo porcentaje en donantes de sangre.

El virus ha sido completamente secuenciado y se han diseñado ensayos diagnósticos usando la RCP, capaces de amplificar selectivamente al virus. La incidencia de este agente viral en diferentes estudios realizados en pacientes seleccionados, usando un inmunoensayo de detección de ADN (DEIA, DiaSorin), ha sugerido que el virus puede estar involucrado en la transmisión de la hepatitis criptogénica.

Otro estudio reveló que el virus se encuentra presente en una alta proporción en pacientes con hepatitis NANE crónica, en una moderada proporción en pacientes con hepatitis B y C y no se encontró positividad en pacientes con patología hepática no viral.

La coinfección de los virus de las hepatitis B y C con el SEN-V NANE revela rutas de transmisión comunes.

Investigaciones realizadas para comprobar el papel del nuevo virus en las hepatitis postransfusionales han mostrado que el virus virtualmente no produce infección nosocomial, pero que sí es la causa probable de la hepatitis NANE asociada con transfusión sanguínea.

RESUMEN

La hepatitis viral es un conjunto de enfermedades clínicamente semejantes entre sí, pero de etiología y epidemiología diferentes. Está causada por los virus de las hepatitis (A, B, C, D y E), recientemente se han descrito nuevos agentes causales (VHG, VTT y SEN-V), involucrados en la etiología de las hepatitis criptogénicas. Los virus de las hepatitis muestran propiedades físicas, químicas y biológicas diferentes entre sí, la vía de transmisión de las hepatitis A y E es fecal-oral, mientras que en el resto la transmisión es por vía predominantemente parenteral. Los virus de las hepatitis comparten los mecanismos fisiopatológicos, el cuadro clínico y las anormalidades de las pruebas bioquímicas, aunque entre ellas se observan rasgos distintivos que caracterizan a cada una de las hepatitis. Es frecuente la asociación entre los diferentes virus de las hepatitis en los grupos de riesgo. La distribución geográfica es diferente para cada uno de ellos, su comportamiento epidemiológico está relacionado, en gran medida, con las condiciones higiénico-sanitarias de las regiones endémicas. En los últimos años, el amplio conocimiento de la biología molecular y los mecanismos patogénicos de los virus de las hepatitis, ha conllevado al desarrollo de sistemas diagnósticos altamente sensibles y a la obtención de vacunas inmunogénicas y eficaces en el control de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Alter HJ. To C or not to C: These are the questions. *Blood* 1995;85(7):1681-95.
- Balmaseda A, Más P, Ribas M, Rodríguez L, Delgado G. Estudio de brotes de Hepatitis A ocurridos en C. de La Habana en el año 1991. *Rev. Cubana de Med. Trop.* 1994;46(1):42-5.
- Brooks GF, Morse SA, Butel JS. *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 16ª ed. México D.F. Ed. El Manual Moderno, 1999:521
- Delgado G, Galindo M, Rodríguez L. Impacto de la vacuna anti-Hepatitis B en el Programa Nacional de Salud. *Comunicación Breve. Avances en Biotecnología Moderna*, 1997;4.
- Díaz B, Sariol C, Martínez R, Rodríguez L. Genomic classification and genetic relationship of a new variant of HAV isolation. *Memorias do Oswaldo Cruz, Río de Janeiro*, 1999;94(3):361-3.
- Díaz M, Rodríguez L, Urbino A, Bravo J, Pedroso P. Reacciones adversas y respuesta inmune en lactantes con aplicación simultánea de las vacunas Heberbiovac HB, DPT y Vamengoc- BC. *Rev. Cubana Med. Trop.* 1997;49(3):196-203.
- Díaz B, Sariol C, Rodríguez L Más P. Purificación y caracterización parcial de una cepa cubana de Hepatitis A. *Rev. Cubana de Med. Trop.* 1996;48(2):123-9.
- Díaz M, Chiang A, Acosta D, Bravo J, Rodríguez L, Pedroso P, Urbino A. Inmunogenicidad de la vacuna HEBERBIOVAC HB en niños. *Rev. Cubana Med. Trop.* 1996;48(3):195-9.
- Hollinger FB, Dreesman GR. Hepatitis viruses. Chapter 94. *In: Rose NR, Conway de Macario E, Fahey JL, Friedman H, Penn GM. Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992:634.
- Hollinger FB, Ticehurst JR. Hepatitis A Virus. Chapter 24. *En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. Fields Virology*. 3th ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1996: 735.
- Hollinger FB. Hepatitis B Virus. Chapter 86. *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. Fields Virology*. 3th ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1996:2739.
- Hoofnagle JH, Purcell R, Gerin JL. Introduction to the Hepatitis viruses. *In: Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET eds. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*. 7th ed. Washington D.C. American Public Health Association, Inc; 1995:327.
- Lemos G, Jameel S, Panda S, Rivera L, Rodríguez L, Gavilondo J. Hepatitis E virus in Cuba. *Opportunistic Pathogens*, January 1998 (in press).
- Más P, Balmaseda Galbán E, Rodríguez L, Castillo A. Detección de IgA en suero y saliva de pacientes con Hepatitis A. *Rev. Cubana de Med. Trop.* 1994;46(1):16-9.
- Ortega A, Pedroso P, Veliz G, Delgado G, Bravo J, Muzio V, Guillen G, Rodríguez L et al: Estudio de seroprevalencia al HbsAg en niños de 1-5 años de edad. *Reporte Corto. Avances en Biotecnología Moderna*, 1999;5 (V33).
- Padrón GJ. Bases moleculares para el estudio de las hepatitis virales. La Habana: Elfos Scientiae, 1998.
- Pedroso P, Díaz G, Rodríguez L. Aspectos inmunogénicos de la vacuna AND recombinante cubana contra la Hepatitis B en adultos jóvenes. *Comunicación breve. Avances en Biotecnología Moderna*, 1997;4.

- Reid AE, Dienstag JL. Viral hepatitis. Chapter 5 *In*: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. eds. *Clinical Virology* _New York: Churchill Livingstone, 1997:69.
- Rodríguez L, Collado-Mesa F, Aragón U, Díaz B, Rivero J. Hepatitis B virus exposure in Human Immunodeficiency virus seropositive Cuban patients. *Memorias do Oswaldo Cruz* 1999: (en prensa).
- Rodríguez L, Díaz M, Delgado G, *et al.* Eficacia de HEBERBIOVAC en hijos de madres positivas al HbsAg . *Reporte Corto. Avances en Biotecnología Moderna*, 1999;5(V46).
- Rodríguez L, Ribas M, Quintero A, Díaz B, Aragón U, Rodríguez C. Toma de muestra en papel de filtro para la detección de IgM antiviral de la Hepatitis A. *Rev. Cubana Med. Trop.* 1998;50(1):42-7.
- Rodríguez L, Quintana A, Díaz B, Larralde O, *et al.* Diagnóstico de Hepatitis A en muestras de orina. Resultados preliminares. *Comunicación breve. Avances en Biotecnología Moderna*, 1997;4.
- Rodríguez L, Más P, Balmaseda A, Delgado G, Comellas M, Palomera R. Desarrollo y evaluación de un ELISA para la detección de anticuerpos de la clase IgM contra el virus de la Hepatitis A. *Rev. Cubana de Med. Trop.* 1994;46(2):86-9.



Picornavirus

Marité Bello Corredor
y Pedro J. Mas Lago

INTRODUCCIÓN

El nombre *Picornavirus* (*pico*: *small*; *rna*: *ribonucleic acid*) se introdujo en 1963 para denominar a esta familia viral que comprende a un grupo de virus de pequeño tamaño y ácido ribonucleico (ARN) como material genómico. Se divide en 6 géneros: *Enterovirus*, *Rinovirus*, *Hepatovirus*, *Cardiovirus*, *Aphthovirus* y *Parechovirus*, siendo los dos primeros los más importantes para el hombre, produciendo una amplia gama de enfermedades que van desde un resfriado común a una parálisis grave.

PROPIEDADES IMPORTANTES DE LOS PICORNAVIRUS

- Virión: icosaédrico, de 28 a 30 nm de diámetro, contiene 60 subunidades.
- Composición: ARN (30 %), proteína (70 %).
- Genoma: ARN de cadena única, lineal, sentido positivo, 7,2 a 8,4 kb de tamaño, PM 2,5 000 000, infectante, tiene una proteína unida al genoma (VPg).
- Proteínas: cuatro polipéptidos principales (VP1, VP2, VP3 y VP4) escindidos a partir de una proteína precursora; las proteínas de superficie VP1 y VP3 son sitios fundamentales para la fijación de anticuerpos, la proteína interna VP4 se asocia con el ARN viral.
- Envoltura: no posee.
- Replicación: en el citoplasma.

Los *enterovirus* y los *rinovirus*, patógenos humanos principales dentro de esta familia viral, presentan algunas diferencias:

	Enterovirus	Rinovirus
Mayor aislamiento	Tracto digestivo	Tracto respiratorio
Excreción respiratorias	Hecesi	Secreciones
Estabilidad en pH ácido	Muy estables	Lábiles
Densidad en CICs (g/cm ³)	1,34	1,40
Temperatura óptima de crecimiento	37 °C	33 °C

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DEL VIRIÓN

Los viriones de los *enterovirus* y *rinovirus* son partículas esféricas, pequeñas y compactas que miden entre 22 y 30 nm de diámetro, las cuales carecen de envoltura lipídica externa. Se componen de un core interno ARN rodeado por una capa proteica o cápside. La simetría de la cápside es icosaédrica y la misma está constituida por 60 subunidades o protómeros, presentando una simetría 5:3:2. Cada protómero está compuesto por 4 proteínas (VP1-VP4). Las proteínas VP1, VP2 y VP3 se encuentran en la superficie del virión y VP4 se localiza en el interior asociada con el ARN. Pueden existir trazas de una quinta proteína, VP0 si el clivaje para formar VP2 y VP4 no es completo durante el ensamblaje del virión, mientras el ARN se inserta en la cápside. El ácido nucleico constituye el 30 % y las proteínas el 70 % del peso del virión. Mediante estudios de difracción de rayos X, se han determinado las estructuras moleculares de *Poliovirus* y *Rinovirus*, las tres proteínas virales de mayor tamaño (VP1, VP2 y VP3) poseen una estructura central semejante, donde el esqueleto peptídico gira sobre sí mismo para formar un barril de ocho tiras (barril β) unidas por puentes de hidrógeno. La cadena de aminoácidos entre el barril β y las porciones terminales N y C de la proteína contiene una serie de asas donde se encuentran los principales sitios antigénicos de la superficie del virión que participan en la neutralización de la infección viral. Alrededor de cada vértice pentamérico de la superficie, existe una hendidura o cañón, se cree que en el piso del cañón está el sitio de fijación al receptor utilizado para adherir al virión a una célula huésped, esta posición protegería al sitio de adhesión a la célula de las variaciones estructurales influenciadas por la selección de anticuerpos en los huéspedes, ya que el cañón es muy estrecho e impide que las moléculas de anticuerpos penetren profundamente.

GENOMA: ESTRUCTURA, ORGANIZACIÓN Y FUNCIONES

El genoma de los *picornavirus* es una molécula única, continua, lineal y simple de ARN denominado ARN(+), se considera infeccioso al poder constituir directamente un ARN mensajero (ARNm) para la síntesis de proteínas virales. Su tamaño oscila entre 7,2 y 8,4 kb, el coeficiente de sedimentación es 35s y peso molecular de $2,4$ a $2,7 \times 10^6$ daltons. Contiene aproximadamente 7 400 nucleótidos (nt). Cuentan con un 30 % de adenina, 24% de citosina, 22,5 % de guanina y 23,5 % de uracilo. Su extremo 3' es poliadenilado y 5' tiene unido covalentemente un oligopéptido codificado por el virus, denominado VPg (del inglés *virion protein genoma*). El genoma es monocistrónico y muestra en ambos extremos de la cadena, zonas no codificadoras llamadas NTR (del inglés *nontranslated region*). En el centro se encuentra la zona codificadora que porta un total de 11 genes que darán lugar a una poliproteína de 247 kdaltons que, luego de un proceso proteolítico llevado a cabo por tres proteasas virales (2A, 3C y 3CD) dará lugar a 11 proteínas finales con diversas funciones. El 71 % de los nt es común entre los tres serotipos de *Poliovirus*, y los aminoácidos que codifican son comunes en un 88 %. Esta zona posee 3 dominios mayores denominados P1, P2 y P3 que darán lugar a 3 productos primarios:

P1 codifica la síntesis de proteínas de la cápside y agrupa los genes 1A, 1B, 1C y 1D.

P2 codifica la síntesis de proteínas de la morfogénesis y agrupa los genes 2A, 2B y 2C.

P3 codifica la síntesis de la VPg, proteasas y replicasas. Agrupa los genes 3A, 3B, 3C y 3D (Fig. 64.1).

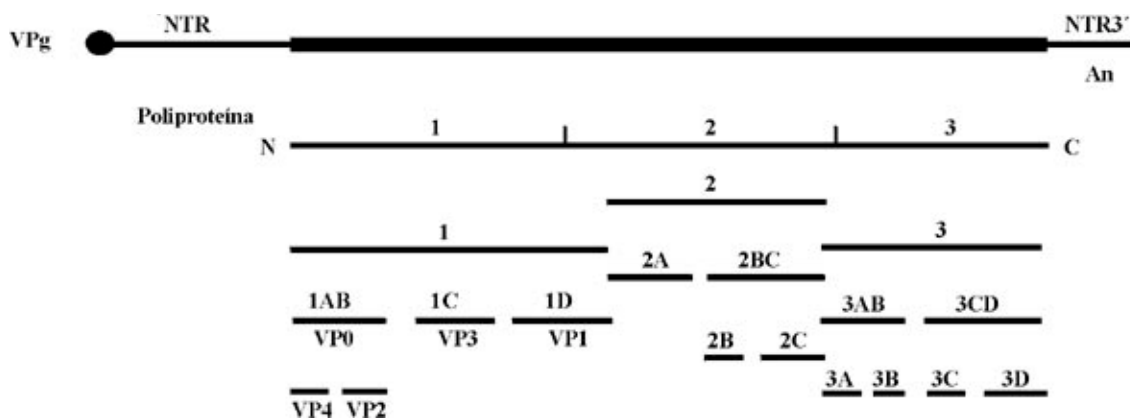


Fig. 64.1 Organización y expresión del genoma del *Picornavirus*. Se observa en el extremo 5' la presencia de VPg, así como en el extremo 3' la existencia de terminal poli A (An). La línea oscura indica la región codificadora, que colinda en sus extremos con las regiones NTR. En la poliproteína se señalan los extremos amino (N) y carboxilo (C). Se observan además los productos del clivaje de la poliproteína y de sus precursores.

REPLICACIÓN DE LOS *PICORNAVIRUS*

El evento inicial en la replicación es la adsorción del virión a los sitios receptores en la membrana plasmática, influenciada por el bajo pH y dependiente de los iones calcio y magnesio, excepto los *Poliovirus* que requieren de pH entre 4,5 y 8,5 y la presencia de iones monovalentes en el medio. El sitio de unión al receptor celular ha sido identificado en la superficie del virión y se encuentra sobre la base de una depresión que está limitada por el vértice del pentámero y se asemeja a un “cañón” de 25Å de profundidad.

Después de la adsorción, el virus penetra a la célula por mecanismos poco conocidos, luego sigue el desnudamiento de este y la liberación del ARN viral dentro del citoplasma, donde ocurre el proceso replicativo. Usando ribosomas y otras proteínas de la maquinaria celular, el ARN viral (que ya es ARNm), forma polirribosomas para la síntesis directa de una poliproteína que es posteriormente cortada formando los precursores proteicos P1, P2 y P3. Los siguientes cortes son autocatalíticos y dan lugar a 3 proteínas más pequeñas que son: la proteinasa 3C (necesaria para el corte de proteínas virales), la proteína 3AB, precursora de VPg y probablemente necesaria para la síntesis de ARN, y una ARNpolimerasa (3D) requerida para la copia del ARN(-) poli U en 5' a partir de su complementario (ARN(+) 3' poli A). Este ARN es llamado intermediario replicativo (IR) y en el retículo endoplásmico liso servirá de molde en la formación simultánea (4 a 8 por cada IR) de ARN(+) para la traducción, y algunos para la síntesis adicional de ARN(-). Cuando la concentración de proteínas aumenta, se incrementa también el número de ARN(+) en el complejo replicativo, y este se encapsidará previa unión de VPg.

Como paso preliminar en el ensamblaje, el precursor de cubierta P1 es cortado por proteinasas virales para formar una subunidad 5s (promotor inmaduro) compuesta por tres agregados proteicos (VP0, VP3 y VP1). La subunidad 5s forma pentámeros, 12 de los cuales son requeridos para formar las 60 subunidades proteicas de la envoltura (Fig 64.2).

La formación de virus infectivos es acompañada de cortes de maduración de VP0 (en VP4 y VP2), catalizado por la propia VP0 en unión con el ARN viral, para quedar las 4 subunidades características de los *picornavirus*.

El período de eclipse, también llamado período latente o de laguna, dura típicamente de 2 a 4 h, y se puede disminuir por el aumento de la multiplicidad de infección.

Terminado el proceso de maduración las partículas virales completas cuentan con 60 copias de cada proteína capsídica, una copia del genoma ARN(+) y una copia de VPg; estas frecuentemente forman cristales en el citoplasma y son finalmente expulsadas al exterior por la lisis de la célula infectada. Durante la replicación no se producen ARNm subgenómicos.

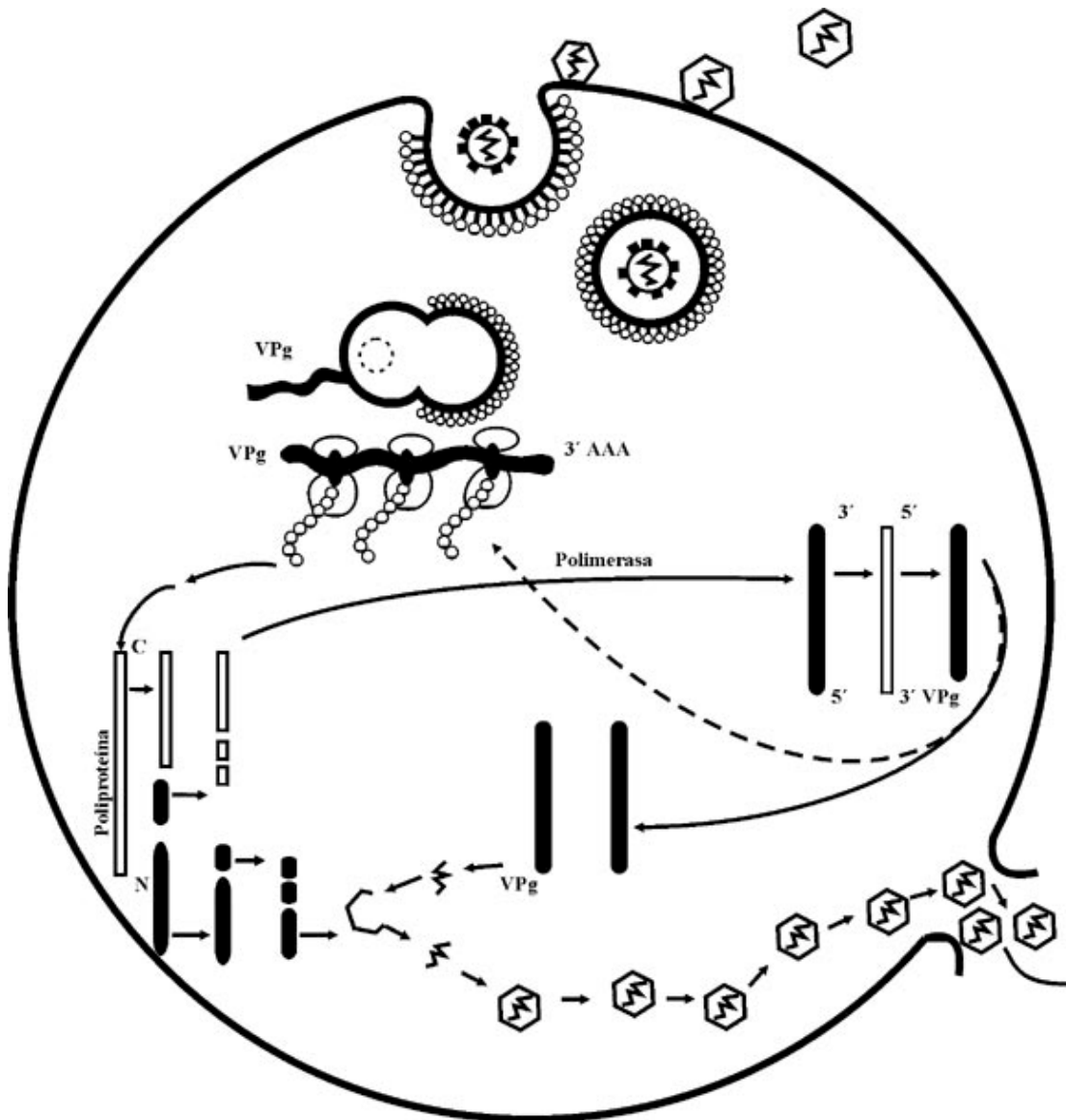


Fig. 64.2 Replicación de los Picornavirus: es independiente del ADN de la célula huésped y se realiza en el citoplasma. La unión de los virus a la célula efectora sólo ocurre a través de sitios receptores específicos de la superficie celular, con esta adsorción se debilita la cápside viral. El virión penetra en la célula por endocitosis, el genoma ARN simple (+) es liberado y usado como ARNm para la síntesis de proteínas. A partir del genoma del virión se sintetiza una proteína gigante que da lugar a múltiples proteínas, como la ARN polimerasa ARN dependiente que produce una plantilla de la cadena (-) del genoma y replica el genoma. La proteína VPg se adhiere al genoma viral, las proteínas estructurales se asocian a la cápside, se produce la encapsulación dando lugar a viriones que son liberados con la lisis celular.

El tiempo requerido para un ciclo de multiplicación completo varía de 5 a 10 h, dependiendo de variables como el pH, la temperatura, el virus, la célula hospedera, el vigor nutricional de la misma y el número de partículas que la infectan. Bajo condiciones favorables son expulsadas de 25 000 a 100 000 partículas por célula.

GÉNERO *ENTEROVIRUS*

Los *Enterovirus* constituyen un amplio grupo de virus causantes de múltiples enfermedades en el hombre, que van desde parálisis grave hasta meningoencefalitis, pleurodinia, miocarditis, hepatitis, lesiones de piel y mucosas, trastornos respiratorios e intestinales, enfermedad febril indiferenciada y conjuntivitis. Afortunadamente, la infección subclínica es mucho más común que la infección clínicamente manifiesta. Diferentes *Enterovirus* pueden producir el mismo síndrome; por otra parte, el mismo *Enterovirus* puede causar más de un

síndrome. Además, algunos síntomas clínicos producidos por los *Enterovirus* no pueden distinguirse de los provocados por otros grupos virales, por tanto, se requieren pruebas de laboratorio para determinar la causa. También pueden producir enfermedades en animales los cuales incluyen bovinos, cerdos, monos y ratones (Cuadro 64.1).

Cuadro 64.1. Clasificación de los *Enterovirus*

Enterovirus	Tipos
<i>Poliovirus</i>	1,2,3
<i>Coxsackievirus A</i>	1-24*
<i>Coxsackievirus B</i>	1-6
<i>Echovirus</i>	1-33*
Otros <i>Enterovirus</i>	68-71

* No existen: *Coxsackievirus A23*, *Echovirus 10* y 28.

A partir de 1969, a los nuevos *Enterovirus* identificados se les asigna un número en vez de subclasificarlos como *Coxsackievirus* y *Echovirus*.

REACCIÓN FRENTE A AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

1. Estables a -70°C durante varios años, permanecen viables por meses a -20°C , por semanas a 4°C y a temperatura ambiente por varios días.
2. Resisten la acción del éter, desoxicolato de sodio, cloroformo y otros solventes lipídicos debido a que carecen de envoltura externa.
3. Ácido estables (pH 3-5), en presencia de materia orgánica resisten pH inferiores a 3 y toleran las sales biliares, lo que es importante en su paso a través del estómago e intestino delgado.
4. La densidad del virión y de las partículas vacías, en cloruro de cesio es de 1,34 y el coeficiente de sedimentación en gradiente de sacarosa es 156S.
5. Se inactivan por las radiaciones U.V. y la desecación; se destruyen por la exposición a temperaturas de 50 a 55°C , 30 min, pero si se añade al medio cloruro de magnesio a concentración molar resisten temperaturas de 50°C durante 1 h.
6. Sensibles al tratamiento con ciertos desinfectantes (formaldehído al 0,3 % y ácido clorhídrico 0,1N).
7. Se inactivan con urea y guanidina (inhiben la liberación de ARN viral).
8. Susceptibles a la luz visible cuando son tratados con colorantes vitales que se incorporan dentro de su estructura (rojo neutro, acridina y proflavina).

SUSCEPTIBILIDAD ANIMAL Y CRECIMIENTO DEL VIRUS

El poder patógeno de los *Enterovirus* para los animales de laboratorio varía de acuerdo con los grupos de virus.

En cuanto a los cultivos celulares, existe un amplio espectro de células susceptibles a los *Enterovirus*. Los *Enterovirus* desarrollan efectos citopáticos (ECP), es decir cambios morfológicos en las células susceptibles, los que se observan por examen directo al microscopio. Las células se vuelven redondas y más refringentes, desprendiéndose de la superficie del frasco o tubo a donde están adheridas, produciéndose la total destrucción del cultivo celular. Por examen de preparaciones coloreadas, se observa en el citoplasma de las células infectadas, una masa eosinófila yuxtenuclear, que aumenta de tamaño progresivamente, rechaza el núcleo a la periferia hasta que se produce necrosis de la célula; el núcleo se observa picnótico. Por microscopía electrónica se observa que esta masa está constituida por numerosos viriones que adoptan una disposición cristalina.

PATOGENIA

La boca es la puerta de entrada de los *Enterovirus* siendo en la bucofaringe (amígdalas y ganglios linfáticos) y en el intestino (placas de Peyer) donde se produce la multiplicación primaria. Una semana después del inicio de los síntomas, es difícil aislar el virus de la faringe, sin embargo, continúa siendo eliminado en las heces durante 4 y 6 semanas, aún cuando los

niveles de anticuerpos en sangre sean elevados. En el primer día, la infección se extiende a los ganglios linfáticos regionales (cervicales profundos y mesentéricos) produciéndose una viremia primaria transitoria de aproximadamente 3 días, llegando a diversos órganos del sistema retículo endotelial (SRE): hígado, bazo y médula ósea y que coincide con el inicio de las manifestaciones clínicas. Después de un período de multiplicación en estos órganos, los virus difunden a la sangre desarrollando una viremia secundaria prolongada o persistente y puede localizarse en los tejidos u órganos para los que tienen tropismo (meninges, sistema nervioso, músculos estriados, miocardio, mucosa respiratoria y piel), donde producen reacciones inflamatorias con necrosis de las células. En el caso de las conjuntivitis por Enterovirus, la puerta de entrada es la conjuntiva y a partir de aquí el virus se disemina por el organismo como el resto de los *Enterovirus* (Fig 64.3).

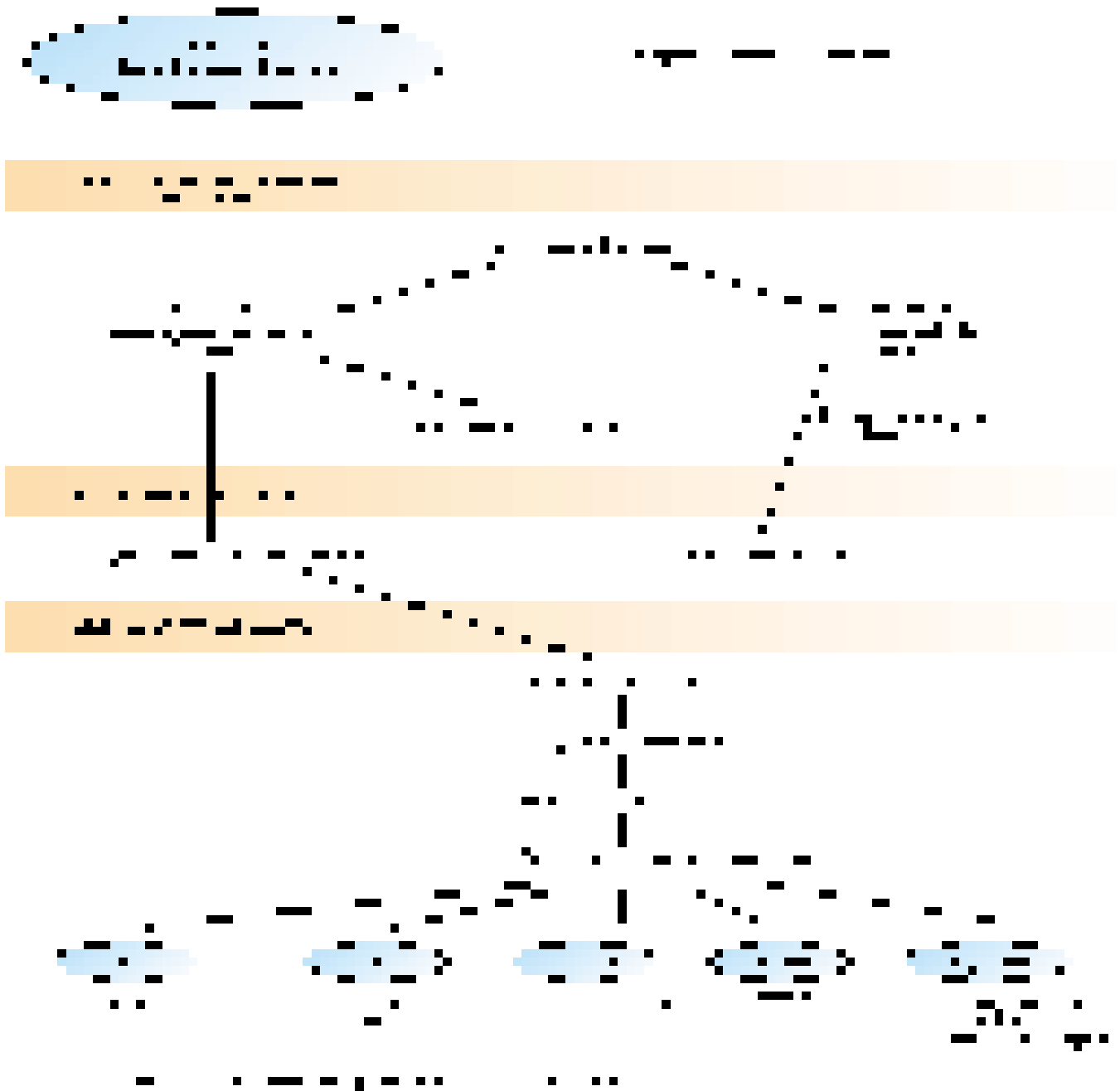


Fig. 64.3 Patogenia de la infección-enfermedad por enterovirus.

POLIOVIRUS

Los *Poliovirus* son los agentes etiológicos causantes de la poliomielitis, enfermedad infecciosa aguda que en su forma grave afecta el sistema nervioso central, destruyendo las motoneuronas en la médula espinal resultando en una parálisis flácida. Sin embargo, casi todas las infecciones por *Poliovirus* son subclínicas. Estos virus son los más importantes y estudiados dentro del género *Enterovirus*, sirviendo como modelo para estudios de biología molecular sobre la replicación de los *Picornavirus*.

Propiedades generales

Los *Poliovirus* son *Enterovirus* típicos (veáse antes), pero presentan algunas particularidades:

1. Se inactivan cuando se calientan a 55 °C durante 30 min, pero el Mg^{2+} 1 mol/L, la leche y el helado impiden esta inactivación.
2. Se inactivan con la pasteurización adecuada.
3. Los *Poliovirus* purificados se inactivan con cloro en concentración de 0,1 ppm, pero para desinfectar las aguas negras contaminadas con el virus en suspensión fecal y en presencia de materia orgánica se necesitan concentraciones mucho mayores.

Susceptibilidad de los animales y cultivos celulares

Los *Poliovirus* infectan al mono cuando la inoculación se hace en cerebro o médula espinal. Los chimpancés y los monos cynomolgus pueden ser infectados por vía bucal, aunque la infección es asintomática y los animales se convierten en portadores del virus en el intestino. Es poco frecuente su replicación en ratones o embriones de pollo.

Los *Poliovirus* crecen en cultivos primarios, diploides y de línea de origen humano y de riñón, testículo y músculo de mono; no crecen en células de animales inferiores. Ellos requieren de un receptor de membrana específico de primate para producir la infección y la falta de este sobre la superficie de las células que no son de primate las hace resistentes a dichos virus. Esta restricción puede superarse introduciendo *Poliovirus* o el gen receptor viral en las células resistentes a través de vesículas lipídicas sintéticas (liposomas), convirtiendo a estas células en susceptibles. Se han desarrollado ratones transgénicos que contienen al gen receptor primario y son susceptibles a los *Poliovirus*.

Propiedades antigénicas

Existen 3 tipos antigénicos o serotipos: *Poliovirus* 1, *Poliovirus* 2 y *Poliovirus* 3, aunque hay relación antigénica entre ellos. Se pueden preparar antígenos fijadores de complemento (FC') de cada tipo a partir de cultivo de tejidos o de muestras de sistema nervioso central, también al inactivar el virus con formalina, calor o luz ultravioleta, se libera un antígeno soluble FC', este antígeno presenta reacción cruzada y fija el complemento con anticuerpos heterotípicos a poliomielitis. Las preparaciones de *Poliovirus* contienen dos antígenos específicos de tipo y pueden detectarse mediante pruebas de ELISA y de FC', son los antígenos D (o N, nativo) y C (o H, calentado); por calentamiento la forma D puede convertirse en la C. La variante D representa partículas completas que contienen ARN, la variante C partículas vacías. Los antígenos C de los tres tipos virales presentan reacción cruzada, pero los antígenos D no.

Patogenia

Después de la entrada por vía oral o respiratoria, generalmente los *Poliovirus*, al igual que el resto de los *Enterovirus* se localizan específicamente en la faringe y en el intestino, con una activa multiplicación en las amígdalas y placas de Peyer. Una semana después del

inicio de los síntomas, es difícil aislar el virus de la faringe, pero continúa siendo eliminado por las heces varias semanas (véase antes). Después de la viremia secundaria es frecuente que se produzca un cuadro clínico menor, pero los Poliovirus circulantes en la sangre pueden invadir el sistema nervioso central, sin que los anticuerpos producidos al inicio de la enfermedad puedan evitar al paso a las fibras nerviosas. Los *Poliovirus* pueden propagarse a lo largo de los cilindros de los nervios periféricos, hacia el sistema nervioso central y avanzar a lo largo de las fibras de las motoneuronas inferiores para afectar a la médula espinal o el cerebro. Puede haber propagación neural si un niño presenta una infección inaparente y se somete a una amigdalectomía, permitiendo el acceso a las fibras nerviosas. Los *Poliovirus* invaden ciertos tipos de células nerviosas, dañándolas o destruyéndolas totalmente. Las astas anteriores de la médula espinal son muy afectadas y en los casos graves también los ganglios grises intermedios, las astas posteriores y el ganglio de la raíz dorsal. Las células nerviosas muestran alteraciones rápidamente, desde cromatólisis leve hasta neurofagia y destrucción. En el cerebro se afectan frecuentemente la formación reticular, los núcleos vestibulares y los núcleos cerebelosos profundos; la corteza prácticamente es respetada, excepto la corteza motora a lo largo de la circunvolución precentral. Los *Poliovirus* no se multiplican en el músculo *in vivo*, los cambios en los nervios periféricos y en los músculos voluntarios son producto de la destrucción de las células nerviosas. Además de los cambios patológicos en el sistema nervioso central puede presentarse miocarditis, hiperplasia linfática y ulceración en las placas de Peyer.

Datos clínicos

En una persona susceptible expuesta a los *Poliovirus* se puede observar varias respuestas, que van desde la infección inaparente hasta la poliomielitis paralítica. La forma más frecuente la constituye la infección asintomática, la cual ocupa de 90 a 95 % de las infecciones. La enfermedad puede tener un curso bifásico, donde sus formas más graves pueden ir precedidas de cuadros menores, aunque no siempre ocurre así.

1. Poliomielitis abortiva. Es la variante más frecuente de los casos infectados, el paciente solo presenta la enfermedad menor, caracterizada por fiebre, fatiga, cefalea, anorexia, mialgia, dolor de garganta, vómitos, estreñimiento, en diferentes combinaciones. Dichas manifestaciones pueden durar dos o tres días ocurriendo después la completa recuperación del paciente, sin presentar signos de focalización neurológica. Esta forma usualmente no es diagnosticada a no ser que se realice aislamiento viral a una muestra del paciente y además se encuentre una conversión de los anticuerpos.
2. Poliomielitis no paralítica (meningoencefalitis viral). Aparece en el 1% de los infectados, además de los síntomas y signos mencionados presenta rigidez y dolor en la espalda y cuello, cuadro clínico típico de una meningoencefalitis viral. Tiene un pronóstico favorable y el paciente suele curarse en pocos días. Sólo un número muy pequeño de casos evoluciona hacia una parálisis.
3. Poliomielitis paralítica. Sólo se presenta en el 0,1 % de los pacientes que son infectados, es la forma más grave de la enfermedad. Suele ir precedida por un período de fiebre y malestar general, cuadro que típicamente desaparece en pocos días, pero puede presentarse sin estos antecedentes. De 5 a 10 días después reaparece la fiebre con signos de irritación meníngea y parálisis flácida asimétrica resultante del daño de la motoneurona inferior. En las partes afectadas surgen calambres musculares, espasmos y contorsiones. Entre el 6 y 25 % de los casos de parálisis aparece afección bulbar. La magnitud del daño varía mucho. La recuperación máxima habitualmente es antes de los 6 meses, con parálisis residual mucho más perdurable. La mortalidad en los niños es del 2 al 5 %, siendo mayor en los adultos, entre un 15 y 30 %.
4. Atrofia muscular progresiva pospoliomielitis (síndrome pospolio). Este síndrome clínico se presenta con frecuencia en algunos pacientes que se recobraron de la poliomielitis paralítica, después de 25 a 30 años después de la infección aguda y se caracteriza por debilidad, dolor y atrofia de las masas musculares. Tiene un curso clínico gradual terminando con la total incapacidad de las áreas afectadas. Se plantea que esta enfermedad

puede deberse a la posible reactivación de una infección viral persistente, o que se trate de un problema de autoinmunidad a las proteínas virales. Otros creen que el síndrome pospoliomielitis es el resultado de la atrofia o agotamiento de las neuronas que inervan a los músculos afectados.

Tratamiento

No hay tratamiento específico, es sintomático.

Diagnóstico de laboratorio de los *Poliovirus*

Los resultados de las pruebas de laboratorio considerados aisladamente, por lo general, son poco demostrativos, hay que tener en cuenta que incluso el aislamiento de *Poliovirus* en las heces de un enfermo, lo cual es uno de los datos más significativos, dada la difusión de los *Poliovirus* en zonas endémicas, no indica necesariamente que sea el agente causal de la enfermedad y la demostración de una seroconversión frente al mismo serotipo no siempre proporciona el diagnóstico de certeza, ya que puede tratarse de una infección subclínica simultánea. Sólo la consideración conjunta de los datos del laboratorio con el estudio clínico y epidemiológico del caso, descartando cualquier otra etiología, permite llegar al diagnóstico. Los métodos de diagnóstico de las infecciones virales pueden dividirse en tres grupos: métodos de aislamiento, métodos serológicos y métodos de diagnóstico rápido. Los métodos de aislamiento constan de tres etapas: toma de muestras, inoculación e identificación del virus aislado.

1. Métodos de aislamientos

a) Toma de muestras.

Como en la mayoría de las enfermedades infecciosas, las muestras deben ser tomadas en los primeros días posteriores a la aparición de los síntomas. Las heces (h) constituyen la muestra más útil y representativa para el aislamiento viral y se recomienda la toma seriada debido a la excreción intermitente del virus que puede estar presente hasta 6 semanas después del inicio de la infección, tanto clínica como inaparente, recogerse en recipientes estériles, mantenerlas congeladas a -20°C ó varias horas a 4°C hasta que sean tratadas. Los *Poliovirus* se recuperan rara vez del líquido cefalorraquídeo (LCR). Los exudados faríngeos, gargarismos e hisopados rectales constituyen fuentes de virus de donde se logra el aislamiento si la muestra es tomada durante los primeros 7 días de la enfermedad y es mejor transportarlos y almacenarlos en medio de transporte viral habitual, con la adición de proteínas.

Aunque poco frecuentes, otras fuentes de virus son la sangre (fase virémica), orina y el tejido cerebral obtenido de las necropsias; se transportan al laboratorio en sus tubos originales de colección, siguiendo las recomendaciones para la toma de los mismos. Todas las muestras deben trasladarse y conservarse en congelación hasta el momento de inocularlas que deben ser tratadas con antibióticos.

Para estudios serológicos se requieren muestras de sueros pareados, el primer suero se toma durante la fase aguda de la enfermedad y el segundo colectado de 14 a 21 días después, en la fase convaleciente, se deben conservar congeladas hasta su uso.

b) Inoculación.

Las muestras obtenidas se inoculan en los sistemas biológicos susceptibles. El aislamiento en cultivo de células es el método de elección para hacer el diagnóstico. El virus se multiplica y produce el ECP característico en cultivo celular primario, diploide y de línea, tanto de origen humano como de mono, entre los 3 y 6 días de inoculados. Recientemente una línea celular continua, L20b, derivada de la transfección de la línea celular L de ratón, con el clon de ADNc (20b) del gen que codifica para el receptor humano para *Poliovirus*, ha surgido con el objetivo de disponer de un sistema de aislamiento viral selectivamente más susceptible a la infección por este virus.

c) Identificación.

La identificación específica de serotipo depende de la prueba de neutralización (Nt) que emplea mezclas de sueros hiperinmunes, siendo los más utilizados los de *Lim*

Benyesh-Melnick (LBM) que contiene antisueros equinos combinados en 8 pools capaces de identificar 42 enterovirus que crecen bien en cultivos celulares. Los aislamientos también pueden ser identificados por pruebas de Nt con sueros de referencia frente a los tres tipos de *Poliovirus*.

2. Métodos serológicos.

Los métodos serológicos en el diagnóstico de la poliomielitis, tienen un valor limitado, por lo general, el título de anticuerpos ya se encuentra elevado en el momento de detectarse los primeros síntomas y es difícil demostrar una seroconversión o el aumento significativo del título de anticuerpos en dos muestras de suero del enfermo. Se utiliza fundamentalmente la prueba de neutralización (Nt) del efecto citopatógeno, la cual es laboriosa, pero muy específica y permite el diagnóstico de tipo, pero difícilmente se detecta un aumento de título entre dos muestras de sueros pareados debido a que, generalmente, el primer suero se obtiene cuando se han instalado los síntomas clínicos y ya se produjo una respuesta inmune. Por otra parte, como los anticuerpos persisten a títulos bajos durante muchos años, la Nt es la reacción que se utiliza para determinar el grado de inmunidad de la población. La prueba de fijación del complemento (FC') es grupo específica y con antígeno de virus activo puede determinar el tipo de virus cuando se trata de una primoinfección, pues las reinfecciones producen reacciones cruzadas entre los tres serotipos. Como los anticuerpos FC' desaparecen al poco tiempo, cuando se obtiene una muestra de suero durante la convalecencia y se detecta un título elevado de anticuerpos, esto constituye una fuerte presunción diagnóstica. También puede utilizarse la prueba de Nt por reducción de placas.

Las técnicas inmunoenzimáticas como el ELISA se aplican poco al serodiagnóstico de los *Poliovirus*, pero se han normalizado ensayos indirectos para el seguimiento de la inmunidad inducida por candidatos a vacunas.

3. Métodos de diagnóstico rápido.

Actualmente son empleadas varias técnicas de diagnóstico rápido que viabilizan el diagnóstico y la caracterización de cepas, como las técnicas de biología molecular, entre ellas la hibridación y la reacción en cadena de la polimerasa (RCP), ambas para detectar el ácido nucleico viral en LCR, heces y cultivo celular.

La hibridación de ácidos nucleicos usando sondas específicas constituye una rápida y confiable alternativa en el estudio genómico, brindando una importante información al diagnóstico virológico. El uso de oligonucleótidos sintéticos, generalmente de ADN, ofrece varias ventajas como sonda, incluyendo especificidad, rápida hibridación, preparación en grandes cantidades, a bajo costo. El marcaje no radiactivo con enzimas, fluoresceína, etc., ha primado en los últimos años sobre el marcaje radiactivo. Su aplicación al diagnóstico de los *Enterovirus* ha facilitado la detección rápida de miembros de este género usando sondas de secuencias comunes a varios virus (zonas NTR), así como en la detección y diferenciación de la naturaleza de agentes como los *Poliovirus*. El método tiene como desventaja la baja sensibilidad cuando el título viral es bajo, y, por tanto, es más usado en combinación con las técnicas de amplificación enzimática que lo supera en este aspecto.

La RCP ha sido la técnica más prometedora en el campo de la biología molecular aplicada a la detección directa de los *Enterovirus*. Se han aplicado tres estrategias fundamentales:

1. Detección universal de muchos serotipos.
2. Detección específica de un número limitado de serotipo.
3. Detección selectiva de variaciones en cepas de un serotipo.

Los *Poliovirus* han estado presentes en cada estrategia. El conocimiento de la existencia de fragmentos de secuencias nucleotídicas conservadas entre los miembros del mismo género (zonas NTR) ha llevado al uso de cebadores universales. Se han utilizado muestras de heces, aguas albañales, LCR, entre otras, en la detección rápida de *Poliovirus*. El estudio e investigación específicos de los *Poliovirus* ha sido de valor con el uso de cebadores grupo específicos, siendo las zonas de VP1, VP2 y ARNpolimerasa las más seleccionadas. Se logró una RCP múltiple capaz de diferenciar a los *Poliovirus* de otros *Enterovirus* a partir de diferentes muestras; también se amplificó el gen de la replicasa y se logró detectar *Poliovirus* en LCR, linfocitos y músculo de pacientes con síndrome

pospolio. El conocimiento detallado de las diferencias nucleotídicas entre *Poliovirus* salvajes y vacunales llevó a diseñar una RCP capaz de detectar sólo los *Poliovirus* vacunales usando cebadores de VP1 y así determinar la naturaleza del agente.

4. ¿*Poliovirus* salvaje o vacunal? Ante un aislamiento viral positivo a poliovirus, máxime si procede de pacientes que sufren parálisis flácida aguda (PFA), lo más importante es determinar si es *Poliovirus* salvaje o vacunal. Además de las condiciones epidemiológicas particulares que orientan al diagnóstico, las técnicas virológicas han sido herramientas útiles en la determinación de la naturaleza del agente. Las primeras se basaron en la labilidad del *Poliovirus* vacunal de crecer a temperaturas de 40 °C, descubiertas en 1958 y que fue llamada capacidad reproductiva a temperaturas supraóptimas (rtc 40). También se descubrió que las cepas atenuadas muestran una marcada reducción de la eficiencia de la formación de placas en medios ácidos, comparadas con las cepas salvajes, sin embargo, este marcador (llamado d) no se corresponde tan bien con la neurovirulencia como lo hace el rtc 40; ambos marcadores se usaron para chequear los lotes de vacunas vivas atenuadas. Se describieron también las pruebas de McBride y Wecker que comparan las curvas de Nt cinética utilizando sueros contra cepas vacunales, resultando ser neutralizadas más rápido que las salvajes. El estudio de la capacidad de crecimiento en una capa de células de mono cubierta de agar, reveló que las cepas salvajes producen placas más grandes que las cepas vacunales, denominándose MS a este marcador. También se observó que los virus atenuados se adsorben con más firmeza a una columna de dietilaminoetildextrano, y a esta capacidad se le denominó marcador E. Las “marcas genéticas” d, rtc 40, MS, McBride y E fueron usadas en los años 60, como criterios para evaluar las cepas atenuadas de *Poliovirus*. Teniendo en cuenta las diferencias antigénicas que muestran ambos tipos de *Poliovirus*, en 1979 se prepararon antisueros específicos para la diferenciación intratípica de *Poliovirus*; posteriormente otros investigadores aplicaron anticuerpos monoclonales que detectaban cada variante, pero al igual que con los antisueros, se obtuvieron resultados equívocos, ya que mutaciones con repercusión sobre los epítopes neutralizantes llevaron al no reconocimiento y, por tanto, a falsos negativos. Se desarrolló el *Fingerprinting* que reveló substanciales e inequívocas diferencias entre aislamientos salvajes y vacunales, incluso entre virus de la misma naturaleza aislados de diferentes epidemias, lo cual es muy útil en los estudios de epidemiología molecular. Los cambios fenotípicos casi siempre son expresiones de alteraciones a nivel genético, la secuenciación genómica parcial o total confirma también las diferencias entre cepas. Basado en esto y al tener la secuencia total de los *Poliovirus*, se han diseñado cebadores capaces de discriminar entre aislamientos salvajes y vacunales, y que, por tanto, resultan útiles para aplicar la técnica de RCP como forma de identificar la naturaleza del agente.

Inmunidad

Forman parte de la respuesta inmune, principalmente, por un lado las células sanguíneas e hícticas leucocitarias (inmunidad celular), y por otra, elementos humorales como el interferón, el sistema del complemento y los anticuerpos (inmunidad humoral). La respuesta inmune que estimula la infección enterovírica incluye a los elementos mencionados, pero son los anticuerpos los principales protagonistas de la neutralización del agente.

La inmunidad pasiva es transferida de la madre al niño. Estos anticuerpos (IgG) desaparecen gradualmente durante los primeros 6 meses de vida.

Los anticuerpos neutralizantes aparecen durante los primeros días de exposición al virus, frecuentemente antes de la aparición de los síntomas, y perduran de por vida. Su formación tan temprana en la infección es el resultado de una activa replicación viral en el tracto intestinal y profundas estructuras linfáticas antes de la invasión del SNC. Los virus en cerebro y médula espinal no son influidos por los altos títulos de anticuerpos en sangre, que se encuentran en la etapa preparalítica, la inmunización sólo tiene valor si precede a la aparición de los signos que señalen una infección del SNC.

Los anticuerpos circulantes contra *Poliovirus* no son la única fuente de protección contra la enfermedad. La inmunidad secretora (IgA) alcanzada después de la recuperación de una infección natural o tras una inmunización con VOP previene la reinfección intestinal. Los

anticuerpos secretores tienen un importante papel en la defensa contra la infección por *Poliovirus* y es una de las razones del éxito de la inmunización masiva con la VOP en la interrupción de la transmisión de los *Poliovirus* salvajes.

Las personas inmunodeficientes corren un mayor riesgo de padecer la enfermedad. Estos individuos, con la adquisición del *Poliovirus* salvaje o de las cepas vacunales de *Poliovirus* (las cuales pueden revertir en ciertas ocasiones al estado salvaje), pueden desarrollar una manera atípica de la enfermedad, con un período de incubación mucho mayor y una alta mortalidad después de haber sufrido síntomas crónicos y una inusual distribución de las lesiones en el SNC.

Epidemiología

La poliomielitis ha tenido tres fases epidemiológicas: endémica, epidémica y la era de la vacuna que es la actual.

1. Distribución. Mundial.
2. Estacionalidad. En el trópico y subtropical circulan todo el año, en áreas templadas predominan en verano y otoño, en invierno son raros los brotes; en los países como Cuba, donde existen campañas de vacunación no se cumple la estacionalidad, los casos de parálisis se producen aproximadamente un mes después de suministrarse la vacuna como una complicación de esta.
3. Reservorio. El hombre es el único conocido.
4. Edad, sexo y raza. Puede presentarse en todos los grupos de edad, pero los niños son más susceptibles, ya que los adultos poseen inmunidad; en poblaciones aisladas puede afectar a todas las edades, en las regiones subdesarrolladas donde las malas condiciones higiénico-sanitarias favorecen la amplia diseminación del virus, la poliomielitis es una enfermedad de la infancia (parálisis infantil) y casi todos los niños adquieren inmunidad desde edades tempranas; en los países desarrollados antes de iniciarse las campañas de vacunación, la mayoría de los pacientes eran mayores de 5 años, con la aplicación de la vacuna han variado los grupos afectados, encontrándose casos de parálisis en padres de niños vacunados. El sexo y la raza no son parámetros significativos en esta enfermedad.
5. Período de incubación. Puede variar de 7 a 14 días o de 3 a 35 días.

Vía de transmisión. La más importante es la fecal-oral; otras vías es la transmisión de persona a persona, el contacto con objetos, alimentos y aguas contaminadas; las moscas y las cucarachas pueden desempeñar la función de transmisores mecánicos de los virus, el virus se disemina rápido entre los miembros de una familia y se ve favorecida por el hacinamiento y las malas condiciones higiénico-sanitarias.

El Poliovirus 1 es el más importante desde el punto de vista epidemiológico (tipo epidémico), produce 1 caso de parálisis por cada 100 infectados; el *Poliovirus* 3, considerado el tipo endémico, produce 1 caso de parálisis por cada 500 infectados y por último el *Poliovirus* 2 es el menos importante epidemiológicamente, ya que produce 1 caso por cada 2 000 infectados.

Prevención y control de los *Poliovirus*

Aunque las medidas higiénicas y sanitarias limitan la diseminación del *Poliovirus*, la única medida específica para la prevención de la poliomielitis parálitica es la inmunización con vacunas, ya sean atenuadas o inactivas.

1. Vacunas inactivadas (VIP).

Fue desarrollada originalmente en el año 1955, por el Dr. Jonas Salk, a partir de cultivos primarios de riñón de mono. Actualmente, se utilizan líneas de células de riñón de mono verde africano (Vero). Contiene los tres serotipos de *Poliovirus* en proporciones definidas y es inactivada posteriormente con formol. Esta vacuna confiere inmunidad humoral, lo que previene la diseminación del virus al sistema nervioso central (SNC). Debido a que no contiene virus vivo, no existe la posibilidad de que ocurran mutaciones, evitando así la aparición de casos de parálisis, es la vacuna de elección en los niños inmunodeprimidos y sus contactos. Sin embargo, esta vacuna produce una baja inmunidad a nivel del intestino, por lo que esta no es capaz de disminuir significativamente la circulación del

Poliovirus salvaje y la población vacunada es capaz de diseminar el mismo, esto representa el mayor obstáculo para el uso de esta vacuna en la estrategia para la erradicación de la polio. Otras de sus desventajas son: la necesidad de administrar dosis repetitivas para mantener niveles de anticuerpos detectables, su alto costo y su aplicación parenteral con un personal calificado para su aplicación. Actualmente, algunos países industrializados han introducido el uso combinado de vacuna inactivada (VIP) y vacuna atenuada (VOP) para reducir el riesgo de los casos de parálisis.

2. Vacunas atenuadas (VOP).

Esta fue desarrollada por el Dr. Albert Sabin y licenciada para su uso en el año 1962. Los 3 serotipos de *Poliovirus* fueron atenuados por pases sucesivos en cultivos celulares, tanto de células de riñón de mono como células diploides humanas. Esta vacuna es estabilizada con cloruro de magnesio y es capaz de estimular tanto anticuerpos séricos (IgG e IgM) como anticuerpos secretorios a nivel del intestino (IgA), el sitio primario donde se multiplican estos virus. Esto permite que además de proteger al individuo contra la poliomiélitis, limite la multiplicación del *Poliovirus* salvaje en el intestino, sirviendo como una barrera efectiva contra la circulación de este. Los virus vacunales son excretados por las heces, permitiendo que en países con malas condiciones higiénico-sanitarias se infecten las personas no vacunadas. Esta vacuna además tiene la ventaja de ser administrada por vía oral, por lo que no necesita de un personal entrenado para su administración y su costo de producción es muy bajo en comparación con la VIP. Todas estas características hacen que haya sido seleccionada para la erradicación de la poliomiélitis. El mayor problema relacionado con esta vacuna es que los virus vacunales tienden a mutar (revertir) en el curso de la multiplicación (en particular los *Poliovirus* 2 y 3) y a aumentar su neurovirulencia. Se producen así en raras ocasiones casos de parálisis, tanto en las personas vacunadas como en sus contactos, se estima que hay 1 caso de parálisis por cada 2,4 000 000 de personas vacunadas, fundamentalmente, después de la primera dosis de vacuna, siendo algo mayor en niños inmunodeficientes. Un factor limitante para la VOP es la interferencia, si el intestino de un niño está infectado con otro *Enterovirus* en el momento de administrar la vacuna se puede bloquear el establecimiento de la infección por *Poliovirus* y de la inmunidad; este puede ser muy importante en regiones (mayormente en las tropicales) donde son comunes las infecciones con *Enterovirus*. La VOP no debe suministrarse a personas inmunodeprimidas o a sus contactos en el hogar. La inmunoglobulina puede proteger durante unas cuantas semanas contra la enfermedad paralítica, pero no evita la infección subclínica y es eficaz solo si se administra poco antes de la infección, no tiene valor luego de aparecer los síntomas clínicos.

Los avances en Ingeniería Genética han permitido el desarrollo de un *Poliovirus* vivo que no pueda mutar para incrementar su neurovirulencia, generando solo mutaciones específicas y deseables; se han construido virus recombinantes a partir de virus progenitores pertenecientes a diferentes serotipos de *Poliovirus* y entre cepas virulentas y atenuadas del mismo serotipo. Las nuevas cepas “quiméricas” poseen las características biológicas deseadas: la estabilidad genética del *Poliovirus* 1 y las características inmunogénicas de los tipos 2 y 3. Estos avances pueden dar lugar a una vacuna genéticamente más estable, sin embargo, será difícil hacer pruebas de campo para este nuevo candidato vacunal, ya que habría que demostrar que la nueva vacuna produce menos de un caso por cada millón de personas susceptibles a quienes se les aplique la vacuna.

Erradicación mundial

Para inicios del nuevo siglo, las Organizaciones Mundial y Panamericana de la Salud (OMS/OPS) se han propuesto la eliminación de la poliomiélitis en el mundo. Esto significa erradicar la circulación del *Poliovirus* salvaje utilizando la inmunización antipoliomielítica oral de virus vivo atenuado (VOP) administrada a la población infantil de todo el mundo en forma de Programas Mantenedidos y Días Nacionales de Inmunización (DNI) por Campañas Masivas.

En 1985 la OPS puso en marcha la iniciativa de erradicar la poliomiélitis en las Américas. En 1994, la Comisión Internacional para la Certificación de la Erradicación de la Poliomiélitis

(CICEP) declaró que se había interrumpido la transmisión del *Poliovirus* salvaje en este continente, lográndose con un alto grado de cobertura de vacunación con VOP, unido a un sistema sensible de vigilancia epidemiológica.

Cuando se logre la erradicación de la poliomielitis en el mundo, la administración de la VOP podrá suspenderse siguiendo una adecuada estrategia, pero posteriormente se irá acumulando una población susceptible. Varios estudios sustentan que las cepas de *Poliovirus* vacunal al replicarse en el tracto gastrointestinal y circular entre la población, tienden a experimentar una reversión hacia las cepas salvajes que las originaron, entonces hay que determinar qué tiempo pueden circular y permanecer entre la población y en el medio ambiente las cepas de *Poliovirus* vacunal a partir de que se interrumpe la vacunación y si es tal la duración de este período de permanencia como para que se originen cepas “modificadas” a partir de las cepas vacunales empleadas y producir brotes epidémicos de la enfermedad en la población susceptible que se acumula meses después de concluido el uso de la VOP.

Cuba es el único país del mundo que con los estudios realizados puede brindar a la OMS/OPS un resultado que aclare tales interrogantes y sea trazada así la estrategia de discontinuar la administración de VOP a escala mundial, ya que a partir de que se inició la vacunación antipolio en 1962 con VOP en forma de campaña anual, hasta el presente ya suman 39 campañas y la población cubana menor de 50 años posee una cobertura vacunal mayor del 90 % y no ha sido reportado ningún caso de parálisis infantil por el virus salvaje de la polio desde que se aplica la vacunación la cual ha ido acompañada siempre de un sólido programa de vigilancia con soporte de laboratorio, dando una vez más pruebas ante el mundo de ser un modelo de constancia en la salvaguarda de la salud humana.

Situación mundial de la poliomielitis

Antes de la inmunización, el *Poliovirus* tenía una amplia distribución mundial. Como resultado del empleo de las vacunas tanto inactivadas como atenuadas, se ha visto una disminución del número de países que presentan casos de poliomielitis. Estos van a concentrarse principalmente en los países en vía de desarrollo y con alta densidad de población.

En 1988, se reportó un total de 35 000 casos de polio en el mundo, pero se estima que gran número no fue informado, en 1991 el número de casos disminuyó en el 60 % y la mayoría se concentraba en pocos países (Nigeria, Egipto, Pakistán, India, China y Viet Nam). En ese año fue reportado el último caso de polio en las Américas, se alcanzaba así un total de 120 países en el mundo, en los cuales no se reportaba polio desde 1991. En 1992, se observó un ligero aumento del número de casos debido a un incremento de esta enfermedad en la India, Malasia, Jordán y Holanda los cuales provinieron de la cepa salvaje de la India. El número de casos ha continuado disminuyendo con ligeros incrementos en algunos países por deficiencias en la campaña de vacunación, reapareciendo el *Poliovirus* en varios países. Durante 1995 se realizó un gran esfuerzo en la erradicación de la polio, instaurándose el DNI en 62 países, de los mismos, 25 participaban por primera vez, lográndose la vacunación de 300 000 000 de niños (la mitad de los menores de 5 años en el mundo).

Las estadísticas indican una tendencia a la disminución del número de reportes anuales de poliomielitis parálisis por virus salvaje de la polio en todo el mundo, pero hasta tanto no se alcance la cobertura vacunal completa de la población infantil mundial, no cesará la aparición de nuevos casos.

En Cuba los primeros reportes datan de 1878, pero el primer brote epidémico ocurrió en 1909, fundamentalmente en los menores de 4 años. Posteriormente la enfermedad continuó con un curso endémico y baja incidencia hasta 1934, que cambia su comportamiento epidemiológico, adquiriendo carácter endemo-epidémico con brotes intensos en algunos años, esto hizo cambiar el criterio de que la poliomielitis era rara en países tropicales y sobre todo en forma de epidemias. A partir del 1958, la incidencia de la enfermedad se incrementó progresivamente. Con el triunfo de la revolución en 1959 y el cambio de la política de salud, se inicia la aplicación de nuevas estrategias para el mejoramiento de la salud de la población, introduciéndose la vacunación contra la poliomielitis. En 1962 se realizó la primera campaña de inmunización, en niños de 0 a 14 años, utilizándose la vacuna de *Poliovirus* atenuada siguiendo la experiencia de los países exsocialistas, aplicándose en forma de campañas

masivas en dos dosis con un intervalo de 4 semanas entre estas, reportándose en este año la tasa más baja en 10 años. Después del 26 de mayo de 1962 no se reportó ningún caso de poliomielitis en el territorio nacional, lo que evidencia el magnífico resultado de esta campaña. Posteriormente se decidió continuar con la estrategia de vacunación en forma de campañas masivas, pero se realizaron cambios en las edades a vacunar, en el período de tiempo entre ambas dosis y en la formulación de la vacuna, todo esto al tomar en consideración los resultados de las encuestas seroepidemiológicas que se fueron realizando para conocer el estado inmunitario de la población. Desde 1962, hasta el presente los pocos casos de parálisis ocurridos son de origen vacunal y se han efectuado 39 campañas de vacunación masiva contra la poliomielitis, lo que garantiza que la población menor de 50 años haya recibido vacuna antipoliomielítica.

COXSACKIEVIRUS

Los *Coxsackievirus*, importante grupo de los *Enterovirus* se divide en dos grupos A y B con diferente potencial patógeno para los ratones recién nacidos. Producen un número amplio de enfermedades en el hombre, y en general tienden a ser más patógenos que los *Echovirus*.

Propiedades generales

Los *Coxsackievirus* son *Enterovirus* típicos (véase antes).

Susceptibilidad animal y crecimiento del virus

Los *Coxsackievirus* son muy infecciosos para los ratones recién nacidos. Los *Coxsackievirus* del grupo A producen miositis diseminada en los músculos esqueléticos de ratones recién nacidos, resultando en parálisis flácida y en ocasiones no se observan otras lesiones. Los *Coxsackievirus* B producen una parálisis espástica, pueden causar miositis focal, encefalitis, esteatitis necrosante, miocarditis, endocarditis, hepatitis y pancreatitis. Los ratones normales toleran la infección con *Coxsackievirus* B, sin embargo, los desnutridos o inmunodeficientes son más susceptibles a la enfermedad. El chimpancé y el mono pueden sufrir infección subclínica; el *Coxsackie* A14 produce lesiones en ratones adultos y monos, parecidas a las causadas por *Poliovirus*; el *Coxsackie* A7 produce en monos parálisis y lesiones graves del sistema nervioso central.

Los *Coxsackievirus* A crecen muy poco en cultivo de tejidos, lo pueden hacer los *Coxsackievirus* A7, A9, A16 y A24. Los *Coxsackie* B si crecen bien en células susceptibles. Los cultivos celulares más usados para el aislamiento de ambos grupos son las células de riñón de mono, amnióticas humanas y fibroblastos de pulmón embrionario humano.

Propiedades antigénicas

Se conocen al menos 29 serotipos diferentes: 23 pertenece al grupo A y 6 corresponden al grupo B.

Patogenia

Es similar al resto de los *Enterovirus* (véase antes), localizándose finalmente en diferentes órganos susceptibles.

Datos clínicos

Los *Coxsackievirus* producen diversas manifestaciones clínicas, además en un brote en particular pueden vincularse diferentes serotipos; las entidades clínicas más frecuentes que producen son las siguientes:

1. Neurológicos.

- a) **Meningoencefalitis viral (MEV)**. Puede ser producida principalmente por los *Coxsackievirus* A7, A9 y por los todos los *Coxsackievirus* B, aunque predominan los *Coxsackie* B2, B3, B4 y B5, los síntomas son de aparición brusca y los más comunes son malestar general, fiebre, cefalea, vómitos, rigidez de nuca; casi siempre es de curso benigno y de corta duración, la recuperación se produce entre 5 y 7 días, son muy raras las secuelas, las epidemias suelen ser de difusión limitada y ocurren en cualquier parte del mundo; principalmente en la infancia, en Cuba en los últimos 10 años se han producido cinco brotes epidémicos de MEV por *Enterovirus*, 2 de ellos por *Coxsackievirus*.

2. Piel y mucosas.

- a) **Herpangina**. Es una faringitis viral severa, acompañada de fiebre, anorexia, vómitos, dolor abdominal, presencia de vesículas discretas en la faringe, paladar, amígdalas y lengua, es producida fundamentalmente por los *Coxsackievirus* A (tipos 2 a 6, 8 y 10), es una enfermedad autolimitada y es más frecuente en niños.
- b) **Enfermedad de mano-pie-boca**. Se caracteriza por úlceras bucofaringea y una erupción vesicular en plamas y plantas que puede extenderse a manos y piernas, las vesículas cicatrizan sin costras a diferencias de las del *Herpesvirus* o *Viruela*; esta enfermedad se relaciona fundamentalmente con el *Coxsackie* A16, pero también se ha encontrado los tipos A4, A5, A7, A9, A10, el virus se puede recuperar del líquido vesicular; no debe confundirse con la enfermedad de pie y boca del ganado, producida por un *Picornavirus* no infectante para humanos.

3. Enfermedad cardíaca y muscular.

- a) **Pleurodinia (mialgia epidémica o enfermedad de Bornholm)**. Es provocada por los virus *Coxsackie* B, se inicia con fiebre, dolor torácico punzante y súbito, que se intensifica con el movimiento y puede durar 2 días, a veces es precedido de anorexia, malestar, cefalea y dolor abdominal; la enfermedad es autolimitada y la recuperación es total, a pesar de que puede haber recaídas.
- b) **Miocarditis**. Con mayor frecuencia la producen los *Coxsackie* del grupo B, consiste en una inflamación aguda del corazón y de las membranas que lo cubren (pericarditis), es de carácter grave tanto en adultos como en niños y puede causar daño permanente a cualquier edad, en los neonatos puede ser mortal, este grupo de virus son una de las causas de enfermedad miocárdica primaria en adultos; el ejercicio, el alcohol, la desnutrición, el embarazo y la hidrocortisona pueden agravar la enfermedad.

4. Ocular.

- a) **Conjuntivitis hemorrágica aguda**. La produce el *Coxsackie* A24 dentro de este grupo, se inicia súbitamente con hemorrágica subconjuntival, que oscila entre pequeñas Petequias hasta grandes manchas que cubren la conjuntiva bulbar, se producen epidemias, la recuperación es entre 8 y 10 días. En Cuba se han producido epidemias por *Coxsackievirus* A24 en 1986 y 1997.

5. Infecciones respiratorias. Los *Coxsackievirus* A21, A24, B1, B3 y B5 se han vinculado con el resfriado común.

6. Gastrointestinal. Aunque el sitio primario de replicación del virus es el aparato gastrointestinal, contradictoriamente no producen enfermedad notable en este, algunos *Coxsackievirus* A se han relacionado con diarrea infantil, sin demostrar aún la causalidad.

7. Otros.

- a) **Enfermedad febril indiferenciada (enfermedades estivales menores)**. Son brotes agudos de duración breve, se presentan durante el verano y otoño, sin características distintivas, se aíslan de estos pacientes fundamentalmente virus del grupo B.
- b) **Enfermedad generalizada del lactante o enfermedad neonatal**. Producida por los *Coxsackievirus* B, es sumamente grave, el lactante presenta letargo, dificultad para deglutir, vómitos y a veces fiebre, presenta infecciones virales simultáneas de múltiples órganos; puede ser rápidamente mortal o el paciente recuperarse totalmente, se puede adquirir a través de la placenta.
- c) **Diabetes mellitus tipo 1 (diabetes insulino dependiente)**. Se ha visto asociación entre esta enfermedad y la infección previa por algunos *Enterovirus*, específicamente con los *Coxsackievirus* B3 y B4, la hipótesis establece que el “mimetismo molecular”

es la causa de una respuesta autoinmunitaria inducida por un virus, destruya las células β pancreáticas. Se han observado secuencias similares entre un tramo de la proteína P2-C de los *Coxsackievirus* B y la enzima ácido glutámico descarboxilasa de las células humanas β , blanco de la autoinmunidad en la diabetes tipo 1.

- d) **Síndrome de fatiga crónica (fatiga posviral)**. Hay evidencias de una posible relación entre esta enfermedad y la infección con los *Coxsackievirus* B, el paciente presenta fatiga incapacitante de curso prolongado (6 meses o más) sin causa física identificable.
- e) **Enfermedad vesicular porcina**. La produce un *Enterovirus* antigénicamente vinculado con el *Coxsackievirus* B5, el virus porcino también puede afectar a los humanos.

Tratamiento

No hay tratamiento específico, es sintomático.

Diagnóstico de laboratorio

Es muy similar al de los *Poliovirus* (véase antes) con algunas particularidades.

1. Métodos de aislamiento.

a) Toma de muestras.

Las heces son las más útiles y representativas para el aislamiento viral, para cualquier tipo de enfermedad que se sospeche etiología enteroviral, LCR en casos de MEV si la muestra se toma en los primeros 3 días que siguen al inicio de los síntomas y se deben congelar y trasladar al laboratorio en esta forma e inocular tan pronto sea posible. Los exudados faríngeos son tomados durante los primeros 7 días de la enfermedad. El exudado conjuntival en casos de conjuntivitis debe ser tomado al inicio de los síntomas, aunque también puede tomarse heces y exudado faríngeo.

b) Inoculación.

Las muestras obtenidas se inoculan en los sistemas biológicos susceptibles. El aislamiento en cultivo de células es el método de elección para hacer el diagnóstico (véase antes). Para el aislamiento de varios tipos de *Coxsackievirus* A que no crecen en cultivo de tejidos, está indicada la inoculación de ratones recién nacidos de no más de 1 día por vía intracerebral, intraperitoneal o subcutánea, los signos de enfermedad deben aparecer entre 3 y 8 días con las cepas del grupo A y de 5 a 14 días con las del grupo B.

c) Identificación.

La identificación específica de serotipo depende de la prueba de neutralización (Nt) (véase antes). Pueden hacerse necesarias pruebas de neutralización en ratones en los casos donde el virus no se replique en cultivos.

2. Métodos serológicos.

La serología es importante para confirmar el diagnóstico. Se comparan los títulos de anticuerpos obtenidos durante la fase aguda de la enfermedad con sueros colectados de 14 a 21 días después, en la fase convaleciente. Las técnicas que más se emplean son la Nt del ECP por punto final, el Test de reducción de placas, la fijación del complemento (FC') y los métodos de precipitación. Las reacciones serológicas de neutralización son muy laboriosas dado el gran número de *Enterovirus*; cuando se aísla el virus del enfermo pueden realizarse usando el virus como antígeno, o si se trata de un cuadro clínico específico, limitarse a los serotipos posibles causantes del cuadro. También se emplean métodos inmunoenzimáticos (ELISA) para la determinación de anticuerpos IgM o IgG en el suero y la inmunofluorescencia indirecta (IFI) fundamentalmente en casos de conjuntivitis.

3. Métodos de diagnóstico rápido.

Actualmente son empleadas varias técnicas de diagnóstico rápido que viabilizan el diagnóstico y la caracterización de cepas (véase antes) como las técnicas de biología molecular, la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) y la hibridación, ambas para detectar el ácido nucleico viral en LCR, HF y cultivo celular y la detección de anticuerpos IgM por técnicas de Western blot.

Inmunidad

Como consecuencia de la infección enteroviral, se produce un aumento inmediato de la inmunidad local intestinal (IgA). Más tarde aparecen anticuerpos séricos (IgM e IgG) que neutralizan el virus durante la fase virémica, pero no afectan al virus cuando se encuentra en los órganos de replicación (bazo, hígado, etc.) La inmunidad es tipo específica y de larga duración o permanente, cuando se debe a anticuerpos neutralizantes (AcNt); estos anticuerpos aparecen pronto en el curso de la infección. Los anticuerpos fijadores del complemento (AcFC') muestran reacciones cruzadas y desaparecen a los 6 meses. También algunos *Enterovirus* pueden inducir anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación. Los anticuerpos maternos transferidos al feto pasivamente, protegen al niño durante los 6 primeros meses de vida.

En los países con deficientes condiciones higiénico-sanitarias, los niños adquieren inmunidad a estos virus en los primeros años de vida. Los adultos tienen anticuerpos contra un mayor número de tipos de *Enterovirus* que los niños, debido a los múltiples contactos con estos agentes.

La producción de AcNt en respuesta a la infección por *Enterovirus* requiere de la cooperación de los linfocitos T y B. La respuesta inmune celular ha sido muy estudiada en los últimos años; la inmunidad mediada por linfocitos T, desempeña una función en la inmunopatología de algunas infecciones crónicas por *Enterovirus*. Estos virus también inducen la producción de interferón en el organismo.

Epidemiología de los *Coxsackievirus*

Tiene aspectos comunes a los *Poliovirus*

1. Distribución. La distribución es mundial y una circulación característica en forma de "oleadas", o sea el tipo predominante en un brote es sustituido por otro en los brotes posteriores. Cuando un serotipo emerge como cepa dominante durante algunos años, entonces puede declinar y reaparecer en epidemias en años después.
2. Estacionalidad. Varían en sus patrones de circulación de acuerdo con la localización geográfica, en áreas tropicales y subtropicales circulan todo el año y en algunos países se presentan algunos tipos como endémicos, en áreas templadas se producen picos epidémicos en verano y otoño, aunque pueden ocurrir infecciones esporádicas todo el año. En ambas zonas geográficas varios *Enterovirus* pueden circular simultáneamente.
3. Reservorio. El único reservorio conocido es el hombre.
4. Edad, sexo y raza. La edad es determinante en la susceptibilidad, manifestaciones clínicas, severidad y recuperación de la infección por *Enterovirus*. En los niños y adolescentes son más frecuentes estas infecciones, y la primoinfección se produce, generalmente, antes de los 5 años. En cuanto al sexo, las enfermedades por estos virus son más frecuentes en el sexo masculino que en el femenino. La raza no es un factor importante en estas infecciones, pero algunos autores describen que son más frecuentes en la raza blanca.
5. Período de incubación. Entre 2 y 9 días, en el caso del *Coxsackievirus* A24 es de 24 h.
6. Vías de transmisión. La más importante de transmisión es la fecal-oral, el contacto con objetos, alimentos y aguas contaminadas también transmiten la infección. Las moscas y las cucarachas pueden ser transmisores mecánicos de los virus. Otra vía importante es la transmisión de persona a persona por vía respiratoria y en el caso de las conjuntivitis a través de la conjuntiva. La transmisión entre los contactos, fundamentalmente familiares y escolares es muy frecuente y se ve favorecida por el hacinamiento y las malas condiciones higiénico-sanitarias.

Profilaxis y control

No hay vacunación para estos virus. Como medidas de control se recomiendan:

1. Mejoramiento de las condiciones higiénico-sanitarias (cloración del agua, eliminación de excretas y desechos, etc.).

2. Evitar el contacto de niños de corta edad con personas con enfermedad febril, especialmente acompañadas de exantema.

ECHOVIRUS

Los *Echovirus* (del inglés, *enteric cytopathogenic human orphan viruses*) pertenecen a un mismo grupo, ya que infectan al hombre y solo pueden ser aislados a partir de dicho huésped inoculando muestras en cultivos de tejidos. Se conocen más de 30 serotipos, pero no todos producen enfermedad en humanos.

Propiedades generales

Los *Echovirus* son *Enterovirus* típicos (véase antes).

Susceptibilidad animal y crecimiento del virus

Los *Echovirus* se desarrollan bien en células de riñón de mono, amnióticas humanas y en células de línea como Hela (células de cérvix humano). Al inicio se diferenciaron a los *Echovirus* de los *Coxsackievirus* por la incapacidad de los primeros para producir patologías en ratones recién nacidos, más adelante se observó que el Echovirus 9 puede causar parálisis en ratones recién nacidos; por el contrario, las cepas de algunos tipos de *Coxsackievirus* (especialmente el *Coxsackie A9*) carecen de patogenicidad en ratones.

Propiedades antigénicas

Se han identificado más de 30 tipos antigénicos diferentes, que pueden distinguirse mediante pruebas cruzadas de Nt o FC'. Algunas variantes no se comportan como las cepas prototipos.

Patogenia

Es similar al resto de los *Enterovirus* (véase antes), localizándose finalmente en diferentes órganos susceptibles.

Datos clínicos

Existen algunos criterios para establecer relación entre los *Echovirus* y la enfermedad:

1. Estos virus se aíslan con mayor frecuencia en personas enfermas que en sanas, que coinciden en edad, situación económica, habitad y tiempo.
2. Se desarrollan anticuerpos contra el virus aislado en el curso de la enfermedad.
3. El virus puede aislarse de líquidos o tejidos corporales que manifiestan las lesiones.

Las patologías que con más frecuencia producen los *Echovirus* son las siguientes:

1. **Meningoencefalitis viral (MEV).** Son causadas fundamentalmente por los tipos 4, 6, 9, 11, 16 y 30; en Cuba en los últimos 10 años se han producido cinco brotes epidémicos de MEV por *Enterovirus*, dos de ellos por *Echovirus*. Estos agentes suelen producir epidemias de amplia difusión. Con la eliminación casi total de la polio en los países desarrollados, los *Coxsackievirus* y *Echovirus* cobran mayor importancia en los síndromes del sistema nervioso central, en ocasiones produciendo secuelas en niños menores de 1 año.

2. **Exantemas (enfermedad exantemática de Boston).** Aparecen exantemas, muy comunes en niños pequeños, pueden ir acompañados de conjuntivitis, debilidad muscular y espasmo, se asocian los *Echovirus* 4, 9, 16 y 18.
3. **Diarrea infantil.** Se vincula con algunos tipos de *Echovirus*.

Tratamiento

No hay tratamiento específico, es sintomático.

Diagnóstico de laboratorio

La infección por *Echovirus* en un caso individual es muy difícil de diagnosticar solo con datos clínicos; sin embargo, se debe considerar una posible infección por estos agentes en los siguientes casos:

1. Brotes de meningoencefalitis viral en verano.
2. Brotes de enfermedad febril con exantema.

El diagnóstico de laboratorio es muy parecido al de los *Coxsackievirus* (véase antes), excepto en la inoculación en ratones, ya que no son susceptibles a la infección por *Echovirus*. Ciertos *Echovirus* aglutinan los eritrocitos del grupo humano O.

Inmunidad

Es casi similar a los *Coxsackievirus* (véase antes).

Epidemiología

Es muy similar a la de los *Coxsackievirus* (véase antes).

Profilaxis y control

Es similar a los *Coxsackievirus* (véase antes).

Otros *Enterovirus*

Desde 1969 a los nuevos *Enterovirus* encontrados se les asigna un número en vez de subclasificarlos como *Coxsackievirus* o *Echovirus*, ya que los miembros de este grupo se ha visto presentan cierta variabilidad biológica. Se incluyen en este grupo cuatro *Enterovirus*: tipos 68 al 71.

Propiedades biológicas

Son *Enterovirus* típicos (véase antes).

Susceptibilidad animal y crecimiento del virus

Los *Enterovirus* del 68 al 71 solo son infectivos para el chimpancé. Los *Enterovirus* del 68 al 71 crecen preferiblemente en células de riñón de mono.

Patogenia

Es similar al resto de los *Enterovirus* (véase antes).

Datos clínicos

1. El *Enterovirus 68* se ha encontrado en las vías respiratorias de niños con bronquitis o neumonía.
2. El *Enterovirus 69* se ha aislado solo de infecciones inaparentes.
3. El *Enterovirus 70* es el principal agente causal de conjuntivitis hemorrágica aguda, cuya inicio es súbito con hemorrágica subconjuntival que varía desde petequias hasta grandes manchas que cubren la conjuntiva, también puede haber queratitis epitelial y radiculomielopatía lumbar. Es más común en adultos, dura de 8 a 10 días y la recuperación es completa; es muy transmisible en condiciones de hacinamiento. En Cuba se han producido dos epidemias por este agente, en 1981 y 1989.
4. El *Enterovirus 71* se ha detectado en pacientes con meningoencefalitis, encefalitis y parálisis similar a la poliomielitis. Este agente tuvo una amplia circulación en los últimos años en Australia, Taiwan y China, produciendo miocarditis, meningoencefalitis, encefalitis, parálisis flácida y enfermedad de manos-pies-boca.

Diagnóstico de laboratorio

Se realiza de la misma forma que el resto de los *Enterovirus* (véase antes).

Tratamiento

No hay tratamiento específico, es sintomático.

Inmunidad

Es similar a los *Coxsackievirus* y *Echovirus* (véase antes).

Epidemiología

Es similar a la de los *Coxsackievirus* y *Echovirus* (véase antes).

Profilaxis y control

No existe profilaxis hasta el presente, las medidas de control son las mismas que para el resto de los *Enterovirus*.

ENTEROVIRUS EN EL AMBIENTE

El único reservorio conocido hasta el presente para los *Enterovirus* humanos es el hombre; los cuales se eliminan por las heces por períodos prolongados, por lo que la contaminación fecal de las manos, utensilios, agua y alimentos es el camino más importante para su propagación. En las aguas negras o albañales se detectan *Enterovirus* en cantidades considerables y puede ser una fuente importante de contaminación del agua para beber, bañarse, riego y recreación. Estos agentes resisten la cloración y el tratamiento de las aguas negras practicados comúnmente, los cuales producen brotes; se ha demostrado que los *Enterovirus* pueden desplazarse a grandes distancias desde la fuente de contaminación manteniendo su infectividad; la adsorción al material orgánico y al sedimento protege al virus de la inactivación y ayuda a transportarlo. Los mariscos sino están bien cocinados pueden transmitir la enfermedad (Fig. 64.4).

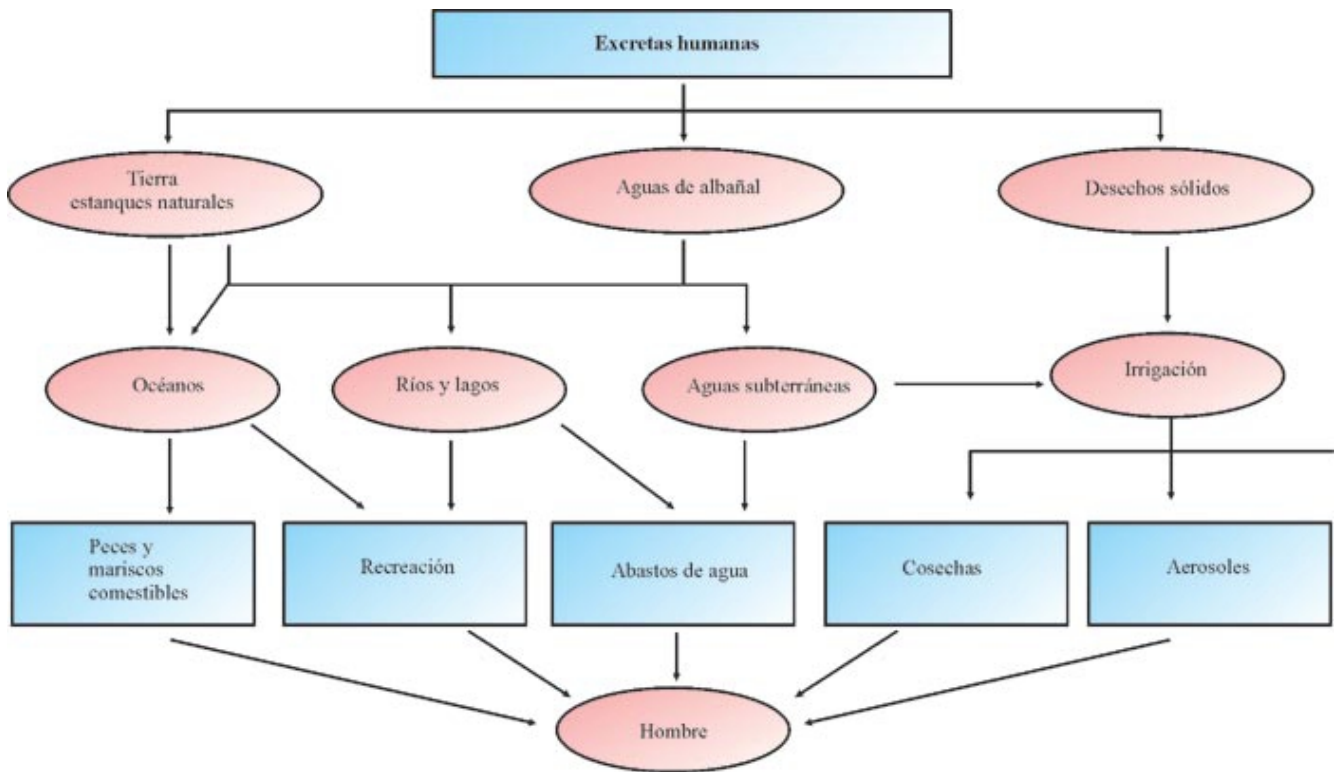


Fig. 64.4. Vías de transmisión de la *Enterovirus* en el ambiente.

GÉNERO *RINOVIRUS*

El género *Rinovirus* pertenece a la familia *Picornavirus*, son unos de los múltiples agentes productores de catarro o resfriado común, de esta adaptación a la mucosa nasal proviene su nombre.

PROPIEDADES GENERALES

Los *Rinovirus* tienen mucha similitud con los *Enterovirus*, aunque; pero presentan algunas diferencias:

1. Sin ácidos lábiles, se inactivan completamente a pH 3.
2. Densidad de flotación en cloruro de cesio de 1,40 g/mL.
3. Son más termoestables que los *Enterovirus*, pueden sobrevivir varios días en el ambiente.
4. La temperatura óptima de crecimiento es 33⁰C.

SUSCEPTIBILIDAD ANIMAL Y CRECIMIENTO DEL VIRUS

Los *Rinovirus* solo son infectantes para los humanos, gibones y chimpancés. Crecen en algunas líneas de origen embrionario humano (pulmonares y renales), en células de riñón de mono y algunas cepas tienen afinidad por las células de línea Hela, también se han usado células de origen traqueal. La temperatura de crecimiento es 33⁰C. El efecto citopatogénico (ECP) que producen es parecido al de los *Enterovirus*, pero más discreto y focal, se observan microplacas de destrucción celular.

PROPIEDADES ANTIGÉNICAS

Se conocen más de 100 serotipos de *Rinovirus*, presentan un antígeno de superficie tipo específico que por pruebas de neutralización ha permitido clasificarlos en los diferentes tipos. No presentan antígeno común de grupo, pero se han encontrado grupos relacionados antigénicamente. Cuando estos virus se tratan a pH 5 y 56 °C, quedan expuestos los epítomos comunes que muestran reactividad cruzadas con otros *Rinovirus* y *Enterovirus* en las pruebas de FC'.

Existe una clasificación en cuanto a los receptores específicos, que los divide en 3 grupos, el mayor de ellos utiliza la molécula de adhesión intercelular (ICAM-1) como receptor para infectar a las células Hela.

PATOGENIA

La puerta de entrada es el aparato respiratorio superior. La replicación se realiza en la superficie de la mucosa nasal produciendo fenómenos inflamatorios, edema, infiltración celular, secreción y descamación de las células de la superficie de la mucosa. Se pueden encontrar elevadas concentraciones de virus en los primeros días de la enfermedad, a partir de entonces los títulos virales descienden aunque persisten los síntomas, se ha detectado en algunos casos, virus a las tres semanas después del inicio de la enfermedad. Otros síntomas son el aumento de secreción nasal y la concentración de proteína. No se ha comprobado que los *Rinovirus* afecten el tracto respiratorio bajo, ni que el enfriamiento incremente la susceptibilidad del virus.

DATOS CLÍNICOS

Los *Rinovirus* son los agentes etiológicos causales de aproximadamente el 40 % de los casos de resfriado común.

Después de un breve período de incubación (2-4 días), comienzan los síntomas como estornudos, cefalea, malestar, rinorrea acuosa con obstrucción nasal, faringitis, tos, con o sin fiebre, el sentido del olfato puede estar afectado; el paciente se recupera alrededor de los 7 días, aunque la tos no productiva puede mantenerse por 2 o 3 semanas. Los niños pueden complicarse con infecciones bacterianas secundarias produciendo otitis, sinusitis, bronquitis y neumonías. Se ha visto que puede precipitar la aparición de asma, tanto en niños como adultos, alérgicos o no y exacerbar la bronquitis crónica.

TRATAMIENTO

Es sintomático. Se ha demostrado que el uso del interferón por vía nasal en altas dosis es eficaz para evitar la propagación a partir de un caso índice dentro de una misma familia, pero no es eficaz en infecciones establecidas.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Los datos clínicos no permiten diferenciar entre un resfriado causado por *Rinovirus* o por otro virus, pero debido al carácter benigno y curso corto de esta enfermedad, solo se realiza diagnóstico de laboratorio en casos específicos para dilucidar problemas etiológicos.

1. Métodos de aislamiento.

a) Toma de muestras.

Las secreciones nasales es la muestra a tomar en los 3 primeros días posteriores a la aparición de los síntomas, en un medio de transporte adecuado y se deben congelar y trasladar al laboratorio en esta forma e inocular tan pronto sea posible. La concentración de virus en las secreciones nasales es baja.

b) Inoculación

Las muestras obtenidas se inoculan en las células susceptibles. El aislamiento en cultivo de células es el método de elección para hacer el diagnóstico (véase antes).

c) Identificación.

La identificación se realiza mediante la prueba de neutralización (Nt) (véase antes) en presencia de sueros polivalentes específicos. También puede verse la resistencia al éter y la labilidad a los ácidos.

2. Métodos serológicos.

La serología es importante para confirmar el diagnóstico. Se comparan los títulos de anticuerpos obtenidos durante la fase aguda de la enfermedad con sueros colectados de 14 a 21 días después, en la fase convaleciente. Las técnicas estándar usada es la neutralización (Nt), puede usarse la fijación del complemento (FC³) y la hemaglutinación. Las reacciones serológicas de neutralización son muy laboriosas dado el gran número de serotipos. La inmunoperoxidasa se ha utilizado de forma experimental.

3. Métodos de diagnóstico rápido.

Actualmente son empleadas varias técnicas de diagnóstico rápido que viabilizan el diagnóstico a partir de muestras clínicas como la reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

INMUNIDAD

Debido a la infección por *Rinovirus*, se produce un aumento de la inmunidad local (IgA) y de anticuerpos séricos (IgM e IgG) entre 7 y 21 después de la infección, los que persisten por años a pesar de que los títulos disminuyen. La inmunidad es tipo específica. Debido a la aparición tardía de los anticuerpos, se cree que no influyen en la recuperación de la enfermedad, quizás la producción de interferón y la inmunidad celular desempeñan alguna función en esta etapa.

EPIDEMIOLOGÍA DE LOS *RINOVIRUS*

1. Distribución. La distribución es mundial.
2. Estacionalidad. En áreas templadas la tasa de ataque es mayor en otoño y primavera.
3. Reservorio. El único reservorio conocido es el hombre.
4. Edad, sexo y raza. Es más frecuente en lactantes y niños, debido a la cantidad de serotipos puede producirse más de una infección al año. En cuanto al sexo y la raza no son un factor importante en estas infecciones.
5. Período de incubación. Entre 2 y 4 días.
6. Vías de transmisión. La transmisión de persona a persona por vía respiratoria (secreciones contaminadas) o por las manos u objetos contaminados. La transmisión entre los contactos familiares y escolares es muy frecuente y se ve favorecida por el hacinamiento.

PROFILAXIS Y CONTROL

No hay vacunación para estos virus y es poco probable que pueda desarrollarse debido a la dificultad de hacer crecer a los *Rinovirus* a altos títulos y al gran número de serotipos.

Como medidas de control se recomiendan:

1. Mejoramiento de las condiciones higiénico-sanitarias evitando el hacinamiento.
2. Evitar el contacto de niños de corta edad con personas con resfriado.

RESUMEN

Los *Picornavirus* constituyen un amplia familia de virus en relación al número de miembros, pero una de las más pequeñas en cuanto al tamaño y complejidad del virión. Son virus ARN de tira única, icosaédricos, de 28 a 30 nm de diámetro. Se divide en seis géneros, dos de

los cuales incluyen importantes patógenos humanos: *Enterovirus* y *Rinovirus*. Los *Enterovirus* son habitantes transitorios del aparato digestivo humano y pueden ser aislados de la faringe o el intestino inferior. Los *Rinovirus* se pueden aislar principalmente de la nariz y la faringe.

Muchos miembros de esta familia producen enfermedades en humanos que varían desde una parálisis grave hasta un resfriado común, siendo la más grave la poliomielitis, aunque afortunadamente la infección subclínica es más frecuente que la clínicamente manifiesta. En la actualidad se lleva a cabo una estrategia mundial para erradicar la poliomielitis.

BIBLIOGRAFÍA

- Avalos I, Más P, Sarmiento L, Palomera R, Muné M, Bello M. Caracterización intratípica de Poliovirus por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa. *Rev. Cubana Med. Trop.* 1998;50(2):100-4.
- Avalos I, Más P, Sarmiento L, Palomera R, Bello M. Outbreak of acute haemorrhagic conjunctivitis in Cuba. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Río de Janeiro*, 1999;94(4):467-8, jul-aug.
- Bello M, Más P, Palomera R, González Z. Brote de meningoencefalitis viral por Coxsackie B5, Cuba. *Rev Cubana Med Trop* 1997;49(1):69-70.
- Bello M, Más P, Palomera R, Morier I, Avalos I, Acosta B *et al.* Meningoencefalitis virales por *Enterovirus* en Cuba en el periodo 1990-95. *Rev. Argentina Microb.* 1997;29:176-83.
- Bello M, Más P, Palomera R, Morier I, Avalos I, Acosta B *et al.* Epidemiología de la meningoencefalitis viral por *Enterovirus*. *Salud y Ciencia*, Año VIII, 1999;8(6):26-8.
- Benenson AS. *Control of Communicable Diseases Manual* 7th ed. Benenson AS ed. Washington D.C: American Public Health Association, 199.
- Brooks GF, Morse SA, Butel JS. *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 16^a ed. México D.F Ed. El Manual Moderno, 1999:543.
- Cohen JI. *Enterovirus y Reovirus*. In: Fauci AS, Brarunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DI eds. *Harrison, Principios de Medicina Interna*, 14^a ed, Madrid: Mc Graw Hill, 1998:1281.
- Couch RB. Rhinovirus. Cap 23 In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM *et al.* *Fields Virology*. 3th ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1996: 655.
- Dolin R. Rhinovirus. En: Fauci AS, Brarunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DI eds. *Harrison, Principios de Medicina Interna*, 14^a ed, Madrid: Mc Graw Hill, 1998:1260.
- Grandien M, Forsgren M, Ehrnst A. Enterovirus Cap 17. In: Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET eds. *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*. 7th ed. Washington D.C American Public Health Association, Inc; 1995:279.
- Gwaltney JM, Rueckert RR. Rhinovirus. Cap. 43. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. eds. *Clinical Virology* New York: Churchill Livingstone, 1997.
- Hovi T. Molecular epidemiology of Enterovirus with special reference to their potential role in the etiology of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). A review. *Clin Diag Virol* 1998;9:89-98.
- Johnston SL. Rhinovirus Cap. 37. In: Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET eds. *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*. 7th ed. Washington D.C American Public Health Association, Inc; 1995:553.
- Más P. Eradication of Poliomyelitis in Cuba: a historical perspective. *Bulletin of the WHO*, 1999;77(8):681-87.
- Más P, Bravo R, Andrus J *et al.* Lessons from Cuba: mass campaign administration of trivalent oral Poliovirus vaccine and seroprevalence of poliovirus neutralizing antibodies. *Bulletin of the World Health Organization* 1994; 72(2): 221-25.
- Más P, Louzara C, Beltrán J, Jacobo M, Palomera R. Circulación de Poliovirus en la población infantil de Cuba. *Boletín de la Oficina de Sanidad Panamericana* 1979; 87(5): 443-49.
- Más P, Comellas MM, Marrero M, Jacobo M, Palomera R. Meningoencefalitis por enterovirus. Estudio de 14 años. *Rev. Cub. Ped.* enero-abril 1992;64(1):16-21.
- Más P, Goyenechea A, Jacobo M, Palomera R. Conjuntivitis hemorrágica. Estudio virológico de la epidemia de 1981. *Rev. Cub. Hig. Epid.* 1985;23:384-90.
- Más P, Jacobo M, Palomera R. Conjuntivitis hemorrágica aguda. Estudio serológico 1982. *Rev. Cub. Hig. Epid.* 1986;24:396-8.
- Melnick JL. Enterovirus: Poliovirus, Coxsackievirus, Echovirus and Newer Enterovirus. Cap. 22 In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM *et al.* *Fields Virology*. 3th ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1996: 655.
- Pumarola A. Picornavirus Cap. 58. En: Pumarola A, Rodríguez-Torres A, García-Rodríguez JA, Piedrola-Angulo G eds. *Microbiología y Parasitología Médica*. 2da. ed. España: Ediciones Científicas y Técnicas S.A; 1987:642.
- Rotbart HA. *Enterovirus*. Cap 42. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. eds. *Clinical Virology* New York: Churchill Livingstone, 1997:997
- Sarmiento L, Más P, Avalos I, Palomera R, Barrios J, Bello M. Valoración de una novedosa tecnología para la detección de Enterovirus en aguas negras. *Rev. Cubana Med. Trop.* 1999;51(3): en prensa.



Reovirus y rotavirus

Gisset Torres Rojas

INTRODUCCIÓN

La familia *Reoviridae* incluye nueve géneros, pero solamente cuatro tienen capacidad para infectar humanos y animales: *Orthoreovirus*, *Rotavirus*, *Coltivirus* y *Orbivirus*. Los otros géneros sólo infectan plantas, insectos y peces.

Los *Rotavirus* humanos producen gastroenteritis aguda, una de las mayores causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Este virus es el responsable de una cifra superior al 20 % de las hospitalizaciones que se producen en niños pequeños por esta patología, siendo la causa de muerte de 870 000 niños anualmente, en países subdesarrollados.

Los *Orthoreovirus*, *Coltivirus* y *Orbivirus*, aún no han sido reconocidos como causa importante de enfermedad en el humano.

ROTAVIRUS

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

Estos virus poseen un diámetro de 70 nm, una doble cápside proteica de estructura icosaédrica y no tienen envoltura. En la capa interna, se encuentra el núcleo o centro que contiene el genoma viral que consiste en ARN de doble cadena con 11 segmentos, cada uno de los cuales tiene un tamaño de 680 pb, los cuales son evidentes usando la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), codificando cada segmento para una proteína específica.

CLASIFICACIÓN Y PROPIEDADES ANTIGÉNICAS

Dentro del género *Rotavirus*, se incluyen siete grupos (A-G) y 3 subgrupos. Desde el punto de vista antigénico las proteínas VP4, VP6, y VP7, son las más importantes. (Fig. 65.1).

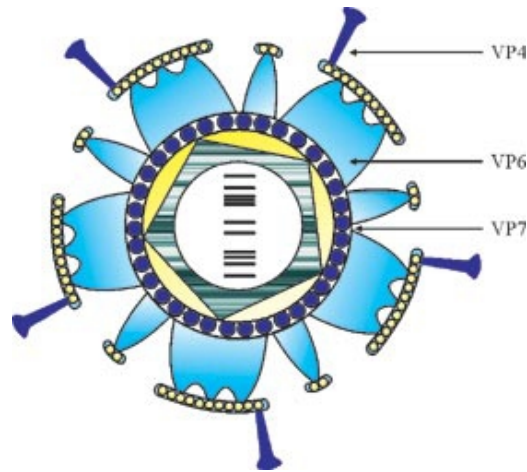


Fig. 65.1 Representación esquemática de la particular de *Rotavirus*.

La proteína VP6, se encuentra situada en la cápside interna, tiene un peso molecular de 41 000 D, constituyendo el 51 % de todas las proteínas del virión. Es codificada por el segmento 6 y es la principal responsable de la reactividad de grupo y de subgrupo (I, II, III). Todos los *Rotavirus* que comparten ese determinante antigénico de grupo son clasificados dentro del grupo A, y los que carecen de él, dentro de los grupos no A (B, C, D, E, F, y G), habiéndose sólo aislado en humanos, los grupos A, B, y C.

La proteína VP7, es una glicoproteína que constituye el principal antígeno capaz de elevar anticuerpos (Acs), siendo determinante para la clasificación en serotipos. Se encuentra localizada en la cápside externa, y tiene un peso molecular de 34 000 D, es la segunda más abundante proteína del virión, y el mayor constituyente de la cápside externa. Es codificada por los segmentos 7, 8, ó 9, dependiendo del tipo de *Rotavirus*. Actualmente, existen 14 serotipos conocidos como serotipos G.

La proteína VP4, constituye las espículas que protruyen de la cápside externa, con un peso molecular de 88 000 D. Es también capaz de inducir protección *in vivo*, existiendo una clasificación basada en el uso de anticuerpos monoclonales contra esta proteína (serotipos P).

REACCIONES A LOS AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

Conservan su infectividad a pH ácidos, y son estables al tratamiento con éter, cloroformo, fluorocarbonos, y proteasas. Se inactivan por agentes quelantes; son los desinfectantes más efectivos el etanol al 95 %, la formalina, y el lisol.

REPLICACIÓN

El virus se adhiere a receptores específicos a nivel celular que no han sido determinados con exactitud. Todo el proceso de replicación ocurre a nivel del citoplasma celular, después de la pérdida de la capa externa viral. En el centro viral se encuentran todas las enzimas necesarias para que se liberen del núcleo los ARNm funcionales y que permanezcan en su interior solamente los segmentos de doble cadena. Inicialmente se activa la ARN transcriptasa viral que transcribe las cadenas de sentido negativo de cada segmento de doble cadena del genoma viral, a ARNm funcionales. Se desconoce el mecanismo exacto de todo el proceso de replicación y ensamblaje, pero es conocido que la replicasa viral se encarga de sintetizar cadenas de sentido negativo, formándose los segmentos de doble cadena, a nivel de las estructuras centrales. Estos virus adquieren una pseudoenvoltura por gemación a través del retículo endoplasmático rugoso, la cual finalmente es eliminada y se forma la cápside externa. La liberación viral se produce por lisis celular.

SUSCEPTIBILIDAD DE LOS ANIMALES

Es capaz de inducir gastroenteritis en un gran número de animales, fundamentalmente en recién nacidos privados de calostro. La presencia de anticuerpos maternos se ha relacionado con infección subclínica.

PATOGENIA

Los *Rotavirus* se transmiten por vía fecal-oral, infectan las células de las vellosidades del intestino delgado, multiplicándose en los enterocitos y alterando sus mecanismos de transporte.

Las células lesionadas al descamarse hacia la luz intestinal liberan grandes cantidades de virus que aparecen en las heces (hasta 10^{10} partículas por gramo de heces); debiéndose las diarreas producidas por estos agentes a trastornos en la absorción de sodio y glucosa, ya que las células dañadas de las vellosidades son reemplazadas por células crípticas inmaduras que tienen baja capacidad de absorción.

CUADRO CLÍNICO

La infección por *Rotavirus* produce un espectro de respuesta que varía de infección subclínica, diarrea moderada, a diarrea severa y deshidratación fatal.

Los dos síntomas más prominentes de esta afección son: vómitos y diarreas, usualmente de aparición súbita. Estos síntomas se acompañan, frecuentemente, de fiebre. Se han reportado síntomas respiratorios precediendo o simultáneamente a los síntomas gastrointestinales, y consisten en: rinitis, faringitis, tonsilitis, y otitis media. Esta afección se comporta como autolimitada (aproximadamente 10 días), pero en pacientes inmunodeprimidos puede producirse una infección crónica sintomática.

En los casos en que se ha producido la muerte, la causa más frecuente la constituye el desequilibrio ácido-básico e hidromineral, seguido de la aspiración de vómitos y las convulsiones.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se basa en el reconocimiento del virus en heces. Las técnicas serológicas se utilizan, fundamentalmente, para estudios epidemiológicos.

1. Examen directo de heces:
 - a) Microscopía electrónica (ME):
La ME permitió la identificación de estos virus, y detecta su clásica morfología. Se utiliza con mayor frecuencia la tinción negativa.
 - b) Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA):
Detecta antígenos de grupos, y de serotipos P y G.
 - c) Aglutinación en látex:
Esta técnica es de diagnóstico rápido, y posee alta sensibilidad.
 - d) Tiras Reactivas:
Forman parte de los métodos no instrumentales de diagnóstico rápido, que son muy útiles a nivel de atención primaria. En Cuba se producen *tests* que se ajustan a esta tecnología, brindando resultados confiables en un tiempo aproximado de 10 min.
2. Detección de ácidos nucleicos:
 - a) Hibridación:
Permite la detección del ARN de *Rotavirus* a partir de heces, utilizando sondas específicas. Muestra una sensibilidad similar a los ELISA.
 - b) Reacción en cadena de la polimerasa (RCP):
Tiene alta sensibilidad y especificidad. Se ha descrito para el diagnóstico de los grupos A, B, y C de *Rotavirus*, y para la detección de los diferentes serotipos.
 - c) Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE):
Es útil en estudios de epidemiología molecular, ya que permite la descripción de los diferentes patrones de migración de los segmentos de ARN.
3. Aislamiento viral en cultivo celular:
Este método es infrecuentemente usado en el diagnóstico de los principales virus productores de gastroenteritis. Este virus se puede propagar en células primarias de riñón de mono (MK), o en células continuas de riñón de simios (MA104). El tratamiento

del virus con tripsina antes de la infección y la incorporación de esta al medio de mantenimiento, además del uso de tubos de tipo rotatorio, incrementan la propagación viral. Para la identificación de los aislamientos, se han usado técnicas como: PAGE y ELISA.

4. Diagnóstico serológico:

Los ensayos inmunoenzimáticos, permiten medir las concentraciones de IgG, IgM, e IgA en fluidos corporales. Las técnicas serológicas se usan, fundamentalmente, para investigaciones epidemiológicas.

EPIDEMIOLOGÍA

La infección por *Rotavirus* se encuentra ampliamente diseminada, la cual ocurre, tanto en países subdesarrollados como desarrollados. El grupo que con mayor frecuencia se observa asociado a enfermedad es el grupo A, los otros grupos (B y C) han sido descritos, esporádicamente en Asia. Los niños son, generalmente, infectados en los primeros 2 a 3 años de edad, con picos de incidencia de enfermedad clínica de 6 a 24 meses de edad. La afección neonatal usualmente es asintomática. En adultos la infección es frecuentemente subclínica, pero ocurren epidemias de enfermedad clínica en unidades geriátricas. En países templados ocurren picos estacionales de infección casi exclusivamente en meses de invierno; en países con estaciones del año no delimitadas, ocurren durante todo el año con picos poco pronunciados. La transmisión del virus se produce por vía fecal-oral y la enfermedad gastroentérica tiene un período de incubación de 24 a 72 h. La infección nosocomial ha sido reportada frecuentemente.

La infección en pacientes inmunocomprometidos presenta una excreción viral prolongada y diarreas intermitentes. En la protección contra la infección por *Rotavirus* parece tener importancia la presencia de IgA secretoria. La reinfección aún en presencia de anticuerpos circulantes refleja la presencia de múltiples serotipos virales.

PREVENCIÓN

Los *Rotavirus* constituyen la causa más importante de enfermedad diarreica endémica grave en lactantes y niños pequeños, a nivel mundial; lo cual argumenta la necesidad del desarrollo de vacunas. Actualmente, existen 2 tipos de vacunas en trámites de licenciamiento: ambas con recombinantes de *Rotavirus* de monos *rhesus*, y bovinos. Las investigaciones continúan con vistas a desarrollar vacunas de tercera generación que incluyen el uso de *Salmonella* como vector de antígenos de *Rotavirus*, vacunas de ácidos nucleicos y de subunidades. Como es una enfermedad de transmisión por vía fecal-oral, las medidas de higiene personal, y el tratamiento del agua potable cobran especial relevancia.

TRATAMIENTO

Las medidas terapéuticas deben estar encaminadas a reponer las pérdidas de agua y electrolitos que se han producido a través de vómitos y diarreas. La administración parenteral de líquidos tradicionalmente ha dado buenos resultados, pero la utilización de la vía oral ha ganado terreno lo cual demuestra una alta eficacia.

OTROS AGENTES VIRALES CAUSANTES DE GASTROENTERITIS

En este grupo se encuentran virus, que fueron descubiertos a través de la microscopía electrónica (ME) que tienen como factor común, la dificultad para cultivarse. Pertenecen a las familias *Caliciviridae*, *Astroviridae*, y *Adenoviridae*, dentro de esta última familia se encuentran virus que ocupan el segundo lugar como causa de enfermedad diarreica endémica en lactantes y niños pequeños universalmente, este tema será abordado en otro capítulo.

Los *Calicivirus* toman su nombre de su apariencia en cáliz o copa en la ME, son pequeños, 37 nm de diámetro, e incluyen además del Agente *Norwalk* a otro grupo que ha sido

considerado como causa de brotes esporádicos y ocasionales de diarreas en lactantes, niños pequeños y ancianos.

El Agente *Norwalk* es la causa principal de la llamada gastroenteritis no bacteriana epidémica de la comunidad, la cual evoluciona como una enfermedad autolimitada, que puede presentarse en brotes; siendo de transmisión fecal-oral, asociada a transmisión hídrica y alimentaria, con mayor frecuencia a ingestión de mariscos. La enfermedad cursa con náuseas, vómitos, diarreas, dolores abdominales, mialgias, fiebre y malestar general, es de inicio brusco, y dura aproximadamente de 24 a 48 h. Este virus mide de 27 a 32 nm de diámetro, con un ARN de sentido positivo. Se han identificado mediante inmunoelectromicroscopia (IEM) otros serotipos causantes de cuadros similares. Este agente tiene distribución mundial, y a diferencia de los *Rotavirus*, afecta a todos los grupos de edad (la mayor incidencia se produce en niños mayores y adultos), se han encontrado anticuerpos a este agente, en un 50 % de poblaciones adultas. El diagnóstico se realiza por IEM o radioinmunodiagnóstico de las heces, en fase aguda.

ASTROVIRUS

Estos virus han sido asociados a casos esporádicos y brotes ocasionales de enfermedad diarreaica en lactantes, niños pequeños y ancianos. Pertenecen a la familia *Astroviridae*, tienen 30 nm de diámetro y una morfología distintiva a la microscopia electrónica. Posee varios serotipos. La importancia de los miembros de esta familia como agentes productores de gastroenteritis humana no ha sido totalmente esclarecida.

Tratamiento

Al igual que en el caso de los *Rotavirus*, el tratamiento es sintomático encaminado a la reposición de líquidos y electrolitos. Deben tomarse medidas de precaución entérica, con control higiénico de deposición de excretas y lavado adecuado de manos. Además, supervisarse la adecuada preparación de los alimentos.

RESUMEN

Los *Rotavirus* son la principal causa en el mundo de enfermedad diarreaica en niños menores de 5 años de edad. Estos virus miden de 60 a 80 nm de diámetro, carecen de cubierta y tienen simetría helicoidal. Poseen un ácido nucleico de tipo ARN de doble cadena con 11 segmentos. La enfermedad que producen tiene un período de incubación de 1 a 4 días, y se caracteriza por diarreas, vómitos y fiebre, comportándose de forma autolimitada en pacientes inmunocompetentes.

El diagnóstico está basado en la detección del virus en heces, en la etapa inicial de la enfermedad. Debido a que la complicación más grave y frecuente que se produce tras esta enfermedad es el desequilibrio ácido-básico e hidromineral, el tratamiento debe dirigirse a la rápida y efectiva reposición de líquidos y electrolitos. Existen otros grupos de virus entre los cuales se encuentran el Agente *Norwalk*, y los *Adenovirus*, que constituyen una causa importante de enfermedad diarreaica.

BIBLIOGRAFÍA

- Benenson AS. *Control of Communicable Diseases Manual*. 16 ed. American Public Health Association, Washington DC: 1995: 197-99.
- Bern C, Martínez J, de Zoysa I, Glass RI. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten year update. *Bull World Health Organ* 1992; 70:705-14.
- Bishop RF, David GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with viral gastroenteritis, 1973;1:1281-3.
- Bishop RF. Natural history of human rotavirus infections. In: Kapikian, AZ, Ed. *Viral infection of the gastrointestinal tract*. New York: Marcel Dekker, INC, 1994: 131-68.
- Burns JW, Pajouh MS, Krishnaney AA, Greenberg HB. Protective effect of rotavirus VP6-specific IgA monoclonal antibodies that lack neutralizing activity. *Science*, 1996;272:104-7.

- Estes MK. Rotaviruses and their replication. *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Eds. Fields Virology*. 3rd. vol 2. Philadelphia: Lippincott-Raven Press, 1996: 1625-55.
- Fernández D, Valle I, Llamas R, Guerra M, Sorell L, Gavilondo J. Rapid detection of Rotavirus in faeces using a dpstick system with monoclonal antibodies and colloidal gold as marker. *J Virol Methods*, 1994; 48:315-23.
- Hoshino Y, Kapikian AZ. Classification of Rotavirus VP4 and VP7 serotypes. *Arch Virol*, 1996; 12: 99-111.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. *Microbiología Médica*. 16. Ed. México: El Manual Moderno, SA de CV, 1999:561-70.
- Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalika AR, Chanock RM. Visualization by immune electron microscopy of a 27nm particle associated with acute infectious non-bacterial gastroenteritis. *J Virol*, 1972,10: 1075-81.
- Lang DR, Glass RI, Compans RW. Summary of the fifth Rotavirus Vaccine Worksop. *J Infect Dis*, 1996; 174:3-4.
- Sack RB, Rabbani GH. Treatment of diarrhoeal diseases. *In: Kapikian AZ, Ed. Viral infections of the gastrointestinal tract*. New York: Marcel Decker, INC, 1994; 753-75.
- Ushima H, Koike H, Mukoyama A, Hasegawa S. Detection and serotyping of Rotaviruses in stool specimens by reverse transcription and polymerase chain reaction amplification. *J Med Virol*, 1992: 38:292-7.



Alfavirus

José Luis Pelegrino

INTRODUCCIÓN

El mundo actual es complejo, dinámico y donde además, los cambios se suceden rápidamente en tiempo y espacio. A esto no escapan los virus donde el agente infeccioso, sus hospederos y vector además de sufrir los cambios naturales a que se ven sometidos, también se ven afectados por una serie de procesos derivados del accionar humano y sus consecuencias sobre el medio ambiente. Nos referiremos a un grupo de virus, que si bien en su origen estaban delimitados geográficamente en su distribución, hoy en día, algunos de ellos tienen una amplia circulación mundial y otros potencialmente pudieran propagarse por la distribución de sus vectores, las afectaciones climáticas y la entrada del hombre en los focos naturales a lo que estaba restringida su circulación.

El género *Alfavirus* comprende un grupo de agentes transmitidos por artrópodos hematófagos que anteriormente eran clasificados dentro de los denominados *Arbovirus*, que comprendían además, a otros agentes virales con un mecanismo similar de transmisión. Se agrupan por la similitud en sus características genéticas y estructural; pero difieren en la variedad de síndromes y enfermedades que provocan en humanos y animales experimentales. Las consecuencias de una infección por *Alfavirus* pueden ir desde una infección asintomática, una enfermedad subclínica hasta una devastadora enfermedad que en muchas ocasiones puede provocar la muerte del paciente.

Los *Alfavirus* son transmitidos por mosquitos, y su estrategia para mantenerse en la naturaleza es un ciclo de pases entre mosquitos y vertebrados entre los cuales las aves y los pequeños roedores son los principales amplificadores. En muchos casos el hombre es infectado accidentalmente y constituye un hospedero terminal (Fig. 66.1). Como ocurre por ejemplo en la encefalitis equina del este. En el trópico los ciclos de amplificación se ven incrementados durante la época de lluvias y en los países templados durante la primavera y el verano. Los mosquitos se infectan al alimentarse de sangre de un animal infectado y posteriormente el virus sale del tracto gastrointestinal del mosquito hacia el hemocele estableciendo una infección persistente al llegar a glándulas salivares y ser secretado por el mosquito en la próxima picada para alimentarse. El tiempo que media entre la picada a un animal hospedero del virus hasta que el mosquito es capaz de infectar se denomina período de incubación extrínseco y dura aproximadamente de 7 a 10 días.

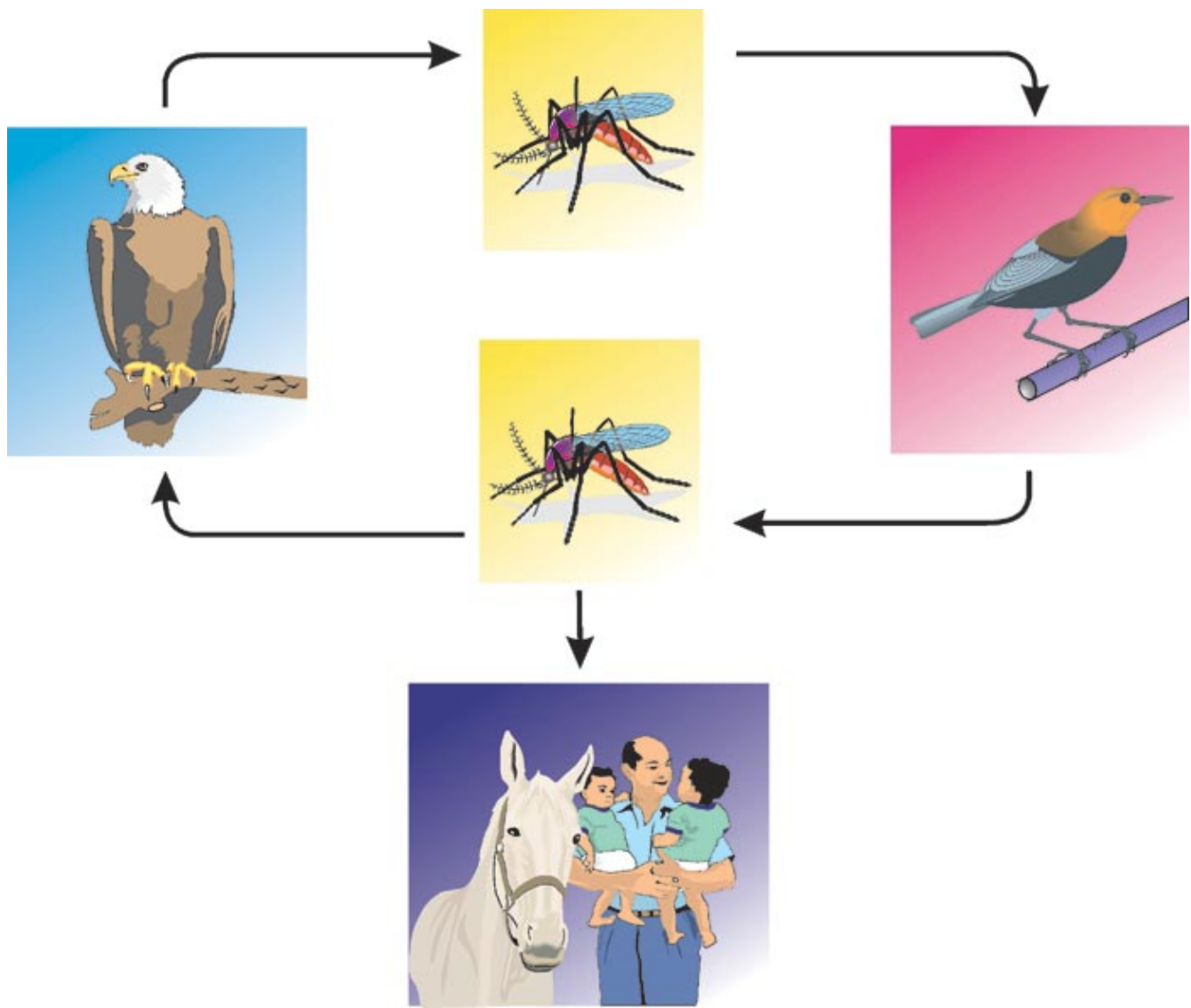


Fig. 66.1 Ciclo de mantenimiento natural de la encefalitis equina donde el hombre y los equinos se infectan tangencialmente.

MORFOLOGÍA

Este género pertenece a la familia *Togaviridae* y el prototipo para estudio de sus características es el virus *Sindbis* (SIN). Se caracteriza por ser esférico con un diámetro entre 60 y 70 nm. Su estructura está compuesta por una nucleocápside dentro de una envoltura lipoproteica.

El genoma está constituido por una cadena de ARN de sentido positivo con un tamaño de 9,7 a 11,8 kb. La cápside tiene forma de ostra; posee dos glicoproteínas virales denominadas E1 (de 50 kd) y E2 (de 45 kd) las que son de gran importancia al estar relacionadas con el reconocimiento del virus en estudios de laboratorio y el sistema inmune como ocurre en la neutralización, hemaglutinación, eventos iniciales de la infección celular y virulencia en los modelos animales. Durante su replicación se sintetizan cuatro proteínas no estructurales (nsP1-4) que estarán involucradas en diferentes etapas de este proceso. En la región 3' del genoma estos virus son poliadenilados (An). Al ser el genoma de sentido positivo durante la transcripción se forma un ARNm de longitud genómica y subgenómica (26 S). El de mayor talla produce una poliproteína precursora que codifica proteínas no estructurales. El ARNm codifica las proteínas estructurales (Fig. 66.2).

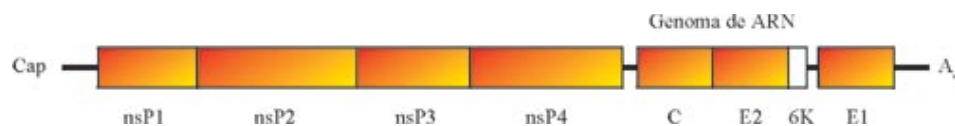


Fig. 66.2 Organización genómica de los *Alfavirus*. C: cápside, E: envoltura, nsP: proteínas no estructurales.

PATOGENIA Y CUADRO CLÍNICO

Las células cultivadas de vertebrados exhiben efecto citopático y muerte celular después de una infección por *Alfavirus*. La mayor asociación está en la afectación de los canales de Na⁺ en las células. En contraste las células de invertebrados, generalmente, replican el virus sin daño celular, similar a la infección no citolítica que ocurre en el mosquito. En los roedores que son usados como modelos experimentales para el aislamiento y diferentes estudios, el virus inoculado intracranalmente provoca una encefalitis fatal.

Para su mejor comprensión agruparemos a los *Alfavirus* acorde con su asociación con los cuadros clínicos que producen, detallando aquellas entidades virales de mayor importancia por su afectación a los humanos (Cuadro 66.1).

Cuadro 66.1. Asociación de *Alfavirus* con enfermedades

Cuadro clínico	Virus	Epidemias
Artropatía aguda	<i>Chikungunya</i>	+
	Mayaro	+
	<i>O'nyong-nyong</i>	+
	<i>Igbo Ora</i>	+
	<i>Ross River</i>	+
	<i>Sindbis</i>	+
	<i>Barmah Forest</i>	+
Enfermedad febril	<i>Semliki Forest</i>	
	Encefalitis equina venezolana *	+
Sistémica (encefalitis)	Encefalitis equina del este*	+
	Encefalitis equina del oeste*	+
No reconocida enfermedad en humanos	Highlands J	
	Aura	
	Cabassou	
	Fort Morgan	
	Pixuna	

* También causan epizootias en equinos.

ALFAVIRUS ASOCIADOS A FIEBRE Y POLIARTRITIS

Chikungunya (CHIK). Hace unos 200 años CHIK fue probablemente un virus que infectaba a monos en bosques y sabanas de África mantenido por mosquitos selváticos del género *Aedes* y así continúa hoy. Sin embargo, hoy CHIK es responsable de extensas infecciones urbanas transmitidas por *Aedes aegypti* en ciudades de África y grandes epidemias en Asia. La artralgia y frecuente artritis que acompañan la fiebre y otras manifestaciones la hacen distintiva. La enfermedad en humanos comienza a las 48 h de la picada del vector y la viremia declina alrededor del tercer o cuarto día de enfermedad. Es menos prominente el cuadro clínico en niños, aunque en una pequeña minoría puede causar un cuadro severo y a veces fatal de la enfermedad. Se ha observado infección en infantes y niños jóvenes que puede provocar una enfermedad no fatal con manifestaciones hemorrágicas y en adultos con insignificantes anomalías hemostáticas como petequias cutáneas, prueba del torniquete positiva o ligera gingivorragia. La infección tiene un comienzo brusco con fiebre y artralgia, seguida por síntomas como *rash* y dura un período de aproximadamente 7 días. La fiebre alcanza valores de 39 y 40 °C. La artralgia es poliarticular, migratoria y afecta

predominantemente las pequeñas articulaciones (manos, pies). Los pacientes, severamente, afectados presentan fuertes dolores al realizar flexiones o erguirse, así como durante los movimientos. Estos se ven acentuados en las mañanas y aumentan con el ejercicio. Mialgia y dolor en la espalda y hombros son muy común. En los casos severos los pacientes pueden tardar meses en resolver la artralgia. El *rash* puede aparecer tan temprano como el primer día o tan tardío como el décimo.

Pruritis o irritación puede estar acompañando al *rash*. Durante el curso agudo de la infección se pueden presentar dolor de cabeza, fotofobia y dolor retroorbital, inyección conjuntival, y es común la anorexia, náuseas y vómitos acompañados de dolor abdominal. Puede haber presencia de adenopatías aunque no floridas. El diagnóstico es realizado por medio de estudios de laboratorio empleando el aislamiento del virus en la fase aguda de la enfermedad (2-3 días del comienzo de los síntomas) o diferentes técnicas serológicas (ELISA, neutralización, inhibición de la hemaglutinación, inmunofluorescencia), así como empleando técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa. Es importante realizar el diagnóstico diferencial al haber otros Arbovirus con similares epidemiología y cuadro clínico.

El tratamiento es de soporte con reposo en la fase aguda. En los casos que no resuelven la artritis se han empleado aspirina y drogas antiinflamatorias sin esteroides con buenos resultados.

O'nyong-nyong. Es considerado un subtipo de CHIK. Apareció en febrero de 1959, como el agente causal de la mayor epidemia en el este africano involucrando alrededor de 2 000 000 de personas. Los mosquitos del género *Anopheles* son los encargados de la transmisión de la enfermedad. El cuadro clínico es similar a CHIK y el *rash* ocurre entre el 60 y 70 % de los casos, la fiebre es menos prominente. Su circulación se encuentra restringida al continente Africano.

Igbo-Ora. Relacionado antigénicamente con los anteriores. Produce un cuadro clínico similar y es transmitido por mosquitos del género *Anopheles*. Se ha aislado en Costa de Marfil, Nigeria y otros países del Centro de África.

Mayaro. Reconocido en 1954 en Trinidad cuando se realizaron varios aislamientos de pacientes enfermos. Posteriormente, se ha asociado a epidemias en Brasil y Bolivia. Se ha aislado en numerosas ocasiones en mosquitos del género *Haemagogus* con pocos aislamientos en mosquitos de otros géneros. Su cuadro clínico es similar a CHIK con presencia de artralgia, mialgia, *rash* y dolores articulares. Mantiene un ciclo selvático que involucra mosquitos y primates.

Ross River. (Poliartritis epidémica). La enfermedad es descrita en Australia donde causó epidemia de poliartitis y constituye un problema de salud. El período de incubación oscila entre 10 y 12 días. Los primeros síntomas son dolor en las articulaciones y el *rash* aparece a los 2 días del comienzo de los síntomas. La erupción es maculopapular y ocasionalmente se acompaña de vesiculación de las pápulas o petequias. Síntomas constitucionales como letargo y fatiga ocurren en la mitad de los casos. Tres cuartas partes de los pacientes tienen manifestaciones de incapacidad por largos períodos.

Sindbis. Es el virus rototipo de los *Alfavirus*, se aisló de mosquitos *Culex* colectados en Egipto en 1952. Produce relativamente pocos casos humanos estudiados y su cuadro clínico muy similar a CHIK. Se ha reportado en África, Australia, Asia, Malasia y Noroeste europeo.

ALFAVIRUS ASOCIADOS PRIMARIAMENTE A ENCEFALITIS

Tres *Alfavirus* tienen suficiente potencial para la neuroinvasión y neurovirulencia en humanos para ser reconocidos como causas de encefalitis: encefalitis equina del este (EEE), encefalitis equina del oeste (EEO) y encefalitis equina venezolana (EEV). Los tres pueden propagarse en proporciones epidémicas y causar epizootias equinas (Cuadro 66.2).

Cuadro 66.2. *Alfavirus* que causan encefalitis

	EEO	EEE	EEV (epizoótica)	EEV (enzoótica)
Ciclo natural	Aves- <i>Culex tarsalis</i>	Aves- <i>Culiseta melanura</i>	Desconocido	Roedores- <i>Culex</i>
Vector a equinos o humanos	<i>Culex tarsalis</i>	<i>Aedes sollicitans</i>	Muchos	<i>Culex</i>
Equinos amplificadores	No	Posiblemente	Sí	No
En humanos Encefalitis	Niños 1/50	Niños 1/17	< 1/100	?
Edad	Adultos 1/1000 Cualquiera	Adultos 1/40 Cualquiera	Niños	?
Mortalidad	3-7 %	50-75 %	?10 %	?
Secuelas	Común en niños	Común	Ocasional	?

Encefalitis equina del este (EEE). Retrospectivamente las epidemias están descritas desde 1931, aunque el primer aislamiento corresponde a 1933. El virus es reconocido por su alta mortalidad en humanos y equinos y la que induce en faisanes y ciertamente entre otras aves. Actualmente, se describen 3 grupos de EEE que pueden ser diferenciados por una prueba cinética de hemaglutinación: Norteamérica y el Caribe; Amazonas; y el otro que agrupa a Argentina, Ecuador, Venezuela, Guyana, Trinidad y Panamá.

En humanos la viremia es detectada rápidamente después de la infección y puede estar acompañada de un pródromo febril. En una relativa alta proporción (1/23) el virus accede al SNC y causa una encefalitis severa. La viremia es, generalmente, indetectable. A pesar de una evidente respuesta humoral el virus no es erradicado del cerebro y la destrucción neuronal continúa a través del efecto citopático directo, daño inflamatorio y vasculitis. Los niños jóvenes son más susceptibles a juzgar por el radio de infección, severidad de las secuelas y el pródromo menor. Al parecer el virus es más neuroinvasivo en el SNC inmaduro. Las lesiones se localizan en la corteza, hipocampo y son severas particularmente en los ganglios basales y tálamo. El cerebelo y la médula espinal están menos afectados. Las células predominantes en la primera semana son los polimorfonucleares y, posteriormente, las células mononucleares predominan. Utilizando microscopía electrónica los viriones han sido observados en los oligodendrocitos.

El cuadro clínico después del pródromo comienza abruptamente con encefalitis, manifestaciones típicas de fiebre, decrecimiento del nivel de conciencia y rigidez de nuca. Los pacientes desarrollan coma y exhiben tremor, pérdida de los reflejos abdominales y signos focales. La mayoría se deteriora y muere en los primeros días de hospitalización. Los pacientes pediátricos sufren un comienzo más abrupto de la enfermedad y las secuelas son mayores.

El patrón en equinos es similar a los humanos. En aves el cuadro es más viscerotrópico que encefálico. El virus es endémico en áreas focales al este de los EUA con rango desde el sur de Canadá a las zona norte de Suramérica. Además de las especies de mosquitos asociadas a su transmisión, una nueva función la puede desempeñar la introducción en Las Américas de *Aedes albopictus* y de donde se aisló el virus en Florida, en 1991, durante un período de actividad epizoótica.

Encefalitis equina del oeste (EEO). Circula en áreas al oeste de los EUA y es, actualmente, un complejo de virus relacionado antigénicamente. El cuadro clínico comienza con malestar, fiebre acompañada de náuseas y vómitos. vértigo, fotofobia, dolor abdominal y mialgia están presentes comúnmente en los pacientes. Posteriormente, se intensifica el dolor de cabeza y emerge el estupor y coma en los casos más graves. En infantes, el comienzo puede

ser más abrupto. Las convulsiones focales o generalizadas ocurren en todos los pacientes menores de 2 meses de edad, en el 90 % en los de 1 año y este tanto por ciento decrece con el aumento de la edad. En el examen físico muestra rigidez de nuca, disturbios sensoriales y una variedad de reflejos patológicos que varían de caso en caso. Después de 10 días comienza la convalecencia gradual; y la muerte, si ocurre, generalmente, es en la primera semana.

Encefalitis equina venezolana (EEV). Los virus agrupados en este complejo están estrechamente relacionados antigénicamente y divididos en seis subtipos (I-VI). Los casos clínicos están asociados tanto a transmisiones enzoóticas como epizoóticas (Cuadro 66.3).

Cuadro 66.3. Miembros del complejo encefalitis equina venezolana (EEV)

Subtipo	Variante	Origen	Equino	Virulencia Hámster	Curiel
I EEV	A	Trinidad	X*	X	X
	B	Honduras	X*	X	X
	C	Venezuela	X*	X	X
	D	Panamá	0	X	X
	E	Panamá	0	X	0
	F	Brasil	0	?	?
II <i>Everglades</i>		Florida	0	X	0
III <i>Mucambo</i>	A	Brasil	0	X	0
	B	Guinea F.	0	X	0
	C	Perú	0	X	0
IV <i>Pixuna</i>		Brasil	0	0	0
V <i>Cabassou</i>		Guinea F	0	X	0
VI		Argentina	0	?	?

*Relacionadas con cepas epizoóticas

El cuadro clínico ocurre de manera abrupta después del período de incubación y ocasionalmente puede haber una remisión del cuadro febril y síntomas que revierten al día siguiente con recrudecimiento. Los hallazgos físicos en los pacientes son diversos, pero la fiebre, la inyección conjuntival, la hiperemia faríngea y la distensión muscular pueden ser observadas. La fase aguda puede durar entre 2 y 5 días. Es común observar mialgia, dolor de cabeza, letargo, fotofobia, hiperestesia, postración y vómitos. La recuperación es rápida y deja pocas secuelas en los infectados.

La EEV es capaz de transmitirse por aerosoles en condiciones de laboratorio por lo que el personal que labora con este virus debe hacerlo cumpliendo las normas de bioseguridad establecidas para el trabajo con esta entidad.

DIAGNÓSTICO DE LOS *ALFAVIRUS*

Todos los *Alfavirus* están, genéticamente, relacionados y poseen determinantes antigénicos comunes por lo que muestran reacciones cruzadas en técnicas de diagnóstico como ELISA, inhibición de la hemaglutinación, radioinmunoensayo, inmunofluorescencia, etc. La identificación más específica se puede lograr con la neutralización y el empleo de anticuerpos monoclonales específicos. El aislamiento se realiza en la etapa aguda de la enfermedad y se emplean células de mosquito y de vertebrados. Además se pueden emplear animales de laboratorio como los ratones lactantes y hámsters. Con el advenimiento de las técnicas de biología molecular como herramientas para el diagnóstico es de mucha utilidad la reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación de ácidos nucleicos.

CONTROL

El control de las enfermedades producidas por *Alfavirus* está relacionado fundamentalmente con el control de los vectores que las producen, ya que con el mantenimiento de bajos índices de infectación de mosquitos o su erradicación garantizarán la no transmisión al humano de estos virus. La adecuada vigilancia empleando laboratorios especializados posibilita también la detección temprana de casos y la aplicación de medidas de control efectivas.

VACUNAS

Existen muy pocas vacunas contra los *Alfavirus* y las existentes consisten en cepas inactivadas del virus y se emplean para la protección de personal con riesgo por su trabajo; pero si son muy empleadas las vacunas de uso veterinario que protegen a la masa equina de las encefalitis por *Alfavirus*. En muchas ocasiones el reporte de brotes de la enfermedad en estos animales está asociado a fallos en las campañas de vacunación o a la no aplicación de vacunas por parte de los dueños.

Estos animales se infectan al activarse la circulación del virus, naturalmente, por la llegada de la temporada de lluvias e incrementarse las densidades del vector, o por la llegada de aves migratorias con nuevas cepas del virus. También puede ocurrir que equinos jóvenes que han perdido los anticuerpos protectores maternos se infecten al introducirse en un área donde naturalmente circulan estos agentes.

RESUMEN

Los *Alfavirus* comprenden un grupo de agentes transmitidos por mosquitos y pertenecen al grupo denominado *Arbovirus* o virus transmitidos por artrópodos. Tienen una amplia distribución mundial aunque la mayoría de ellos circula en zonas bien delimitada geográficamente. Se mantienen naturalmente en un ciclo entre vectores y hospederos vertebrados donde, generalmente, el hombre se infecta tangencialmente. La infección por estos virus provoca en aquellos casos donde la enfermedad es manifiesta dos formas clínicas: una caracterizada por artropatía y *rash* y otra forma donde lo predominante son las encefalitis y son las más importantes las denominadas encefalitis americanas que poseen una elevada mortalidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Robert E Johnston and CJ Peters. Chapter 28: Alphaviruses. *In: Fields Virology* vol. 1. Third Edition. Bernard N. Fields. Ed. Lippincott-Raven Publisher. Filadelfia, 1996.
- Tsai TF, monath TP. Viral diseases in Northamerica transmitted by arthropods or from vertebrate reservoirs. *In: Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 2nd. ed. 2 vol. Feigin RD, Cherry JD (editors) Saunders, 1987.
- JL Pelegrino, S Vázquez, G Guzmán, L Morier, A Castillo, G Kourí. Utilización de un ELISA de doble anticuerpos y la IFI para el diagnóstico rápido de EEE. *Rev. Cub. Med. Trop.* vol 2 (45), 1993.
- Pelegrino JL Vázquez, S Suárez M, Guzmán MG. Vigilancia de las encefalitis de San Luis, EEE y EEO en la provincia de Ciego de Ávila. *Rev. Cub. Med. Trop.* 48(2):109-13, 1996.



Ortomixovirus

Suset Oropesa Fernández

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas (IRA), constituyen uno de los principales problemas de salud que enfrenta la humanidad. Hasta tal punto es así que anualmente cobran la vida de 4 300 000 niños menores de 5 años alrededor de la tierra, la mayoría de los cuales provienen de países del Tercer Mundo.

Contribuyen a la elevada morbilidad y mortalidad la facilidad del contagio, el corto período de incubación, su distribución universal, la diversidad de agentes causales y la dificultad para su prevención.

Entre los agentes etiológicos de las IRA, los virus ocupan un lugar preponderante, siendo el virus de influenza el de mayor implicación en el total de casos. El desarrollo clínico de la enfermedad va desde el resfriado común, hasta complicaciones que pueden resultar mortales.

Teniendo en cuenta que el mismo cuadro clínico puede ser causado por múltiples agentes virales y el mismo agente es capaz de causar una amplia gama de síndromes, es importante disponer de métodos de diagnóstico sensibles, específicos y rápidos que permitan el reconocimiento del agente causal, tomar medidas efectivas de control epidemiológico, racionalizar el uso indiscriminado de antibióticos, y realizar un correcto manejo de los casos.

Muchos factores pueden contribuir al control de la influenza, pero estas posibilidades están limitadas por la capacidad de estos virus para variar rápidamente en la naturaleza y cambiar su estructura antigénica (reordenamiento genético, mutaciones puntuales, etc.), lo cual reduce el efecto protector de la respuesta inmune del hospedero, y se convierte su control en un reto para los científicos.

Los virus de influenza, de acuerdo con su estructura genómica se clasifican en tres tipos (A, B, C) y el tipo A se subclasifica en subtipos.

El virus de influenza tipo A es antigénicamente muy variable, responsable de brotes epidémicos y pandemias. La tasa de variabilidad antigénica del tipo B es menor, causando epidemias y el tipo C es más estable, sólo causa enfermedad respiratoria leve.

Desde 1978, el Ministerio de Salud Pública de la República de Cuba organizó el Plan de Vigilancia de las IRA, pues las infecciones respiratorias agudas (IRA), constituyen un problema importante de salud en nuestro país, especialmente para la población en edades extremas. La gripe o influenza es la primera causa de atención médica, las tasas de morbilidad

y mortalidad causadas por estos ubicuos virus se han incrementado de manera importante según se eleva la esperanza de vida. La influenza asociada a la neumonía ocupa el 5to. lugar entre las causas de muerte en el país.

En la lucha contra la influenza se han desarrollado métodos de diagnóstico clásicos, que en combinación con la aplicación de técnicas moleculares resultan de suma importancia para un mejor conocimiento de la estructura y variabilidad antigénica de estos virus, su epidemiología y su mejor control.

Al abordarse el estudio de estos agentes etiológicos resulta de importancia conocer el virus como tal, su comportamiento, la enfermedad, su epidemiología, profilaxis y control.

CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA

Los virus de la influenza, pertenecen a la Familia *Orthomyxoviridae*, que se divide en cuatro géneros, según el Comité Internacional para la Taxonomía y Clasificación de los Virus.

Familia: Orthomyxoviridae.

Género: Virus de influenza A. Especie tipo: A/PR/8/34 (H1N1)

Género: Virus de influenza B. Especie tipo: influenza B/Harbin/7/94

Género: Virus de influenza C. Especie tipo: influenza C (C/California/78)

Género: Virus Thogoto. Especie tipo: Virus Dhori y Thogoto.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), proporciona periódicamente normas para la nomenclatura de los virus de influenza. Se incluye en la descripción lo siguiente:

Tipo (basado en la especificidad antigénica de la nucleoproteína y la proteína matriz); *huésped de origen* (no se indica para los aislamientos humanos, pero se indica en aislamientos de animales y objetos inanimados); *origen geográfico*; *número de registro de la cepa y año del aislamiento*. Para el virus de influenza tipo A, se señala al final y entre paréntesis, las características antigénicas de la hemaglutinina y la neuraminidasa.

Para los virus del tipo B y C, aunque está demostrada la existencia de variación antigénica en ellos, no está justificada una división en subtipos, de acuerdo con los conocimientos actuales.

Ejemplo: A/Habana/817/85 (H3N2), B/Beijing/184/93, C/París/1/67 y A/turkey/Wisconsin/1/66(Hav5N2).

Se han identificado hasta el presente en humanos, otros mamíferos y aves, 15 subtipos de hemaglutininas (desde HA1 hasta HA15) y 9 subtipos de neuraminidasa (desde N1 hasta N15). En el humano han circulado sólo cepas pertenecientes a los subtipos H1N1, H2N2 y H3N2.

Los virus B y C, están mayormente restringidos al hombre, mientras que la mayoría de los virus de influenza A, infectan especies aviares y sólo, unos pocos subtipos antigénicos infectan al hombre y otros animales, en particular los cerdos y los caballos. El cuarto género *Thogotovirus*, incluye *orthomyxovirus* transmitidos por garrapatas.

Actualmente, estos virus se han separado en dos grupos: *Orthomyxovirus* y *Paramyxovirus*, debido a diferencias en su estructura y en sus patrones de replicación.

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

La estructura de los virus de influenza tipo A y B es similar, mientras la influenza C tiene un patrón diferente en las proyecciones de su superficie (Fig. 67.1).

Las partículas del virus de la influenza presentan aspecto pleomórfico (gran variabilidad en su forma), aunque, generalmente, son esféricas, vistas al microscopio electrónico (ME), con preparaciones teñidas negativamente miden de 80 a 120 nm de diámetro y un centro denso al paso de los electrones. La nucleocápsida es de simetría helicoidal.

La envoltura de estos virus, es una membrana de constitución lipídica, que rodea la partícula viral y se origina de la célula hospedera.

En la envoltura lipídica se insertan radialmente a modo de proyecciones o espículas, las dos glicoproteínas del virus, la HA (en forma de trímeros) y la NA (en forma de tetrámeros) y quedan expuestas como espigas de casi 10 nm de longitud sobre la superficie de la partícula. También se inserta en la membrana la proteína M2 en forma de tetrámeros, pero en un pequeño número.

El tipo C, tiene solamente una glicoproteína de superficie (HEF).

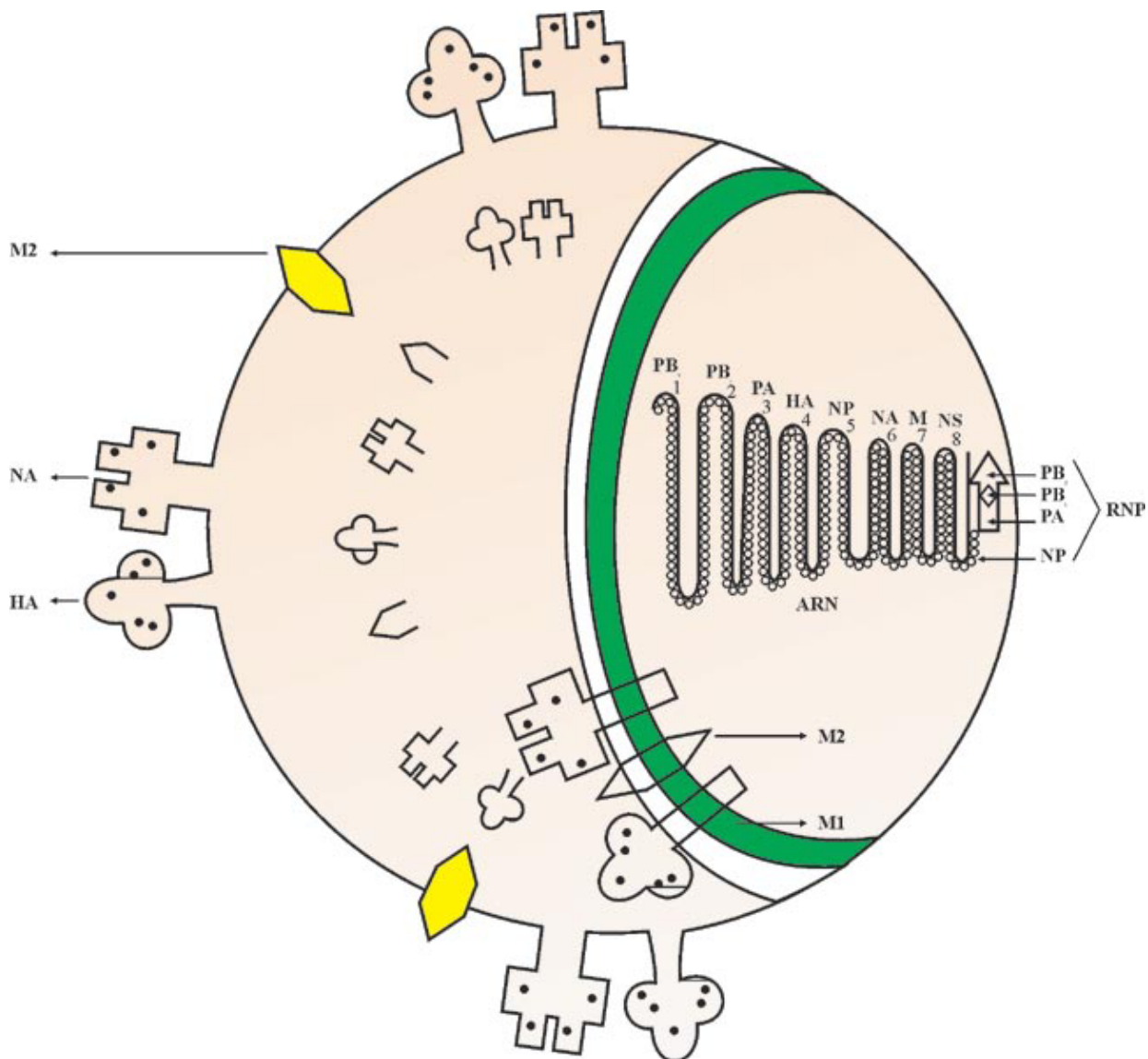


Fig. 67.1 Estructura del virus de influenza.

El virus de influenza, está constituido por nueve proteínas estructurales diferentes: la hemaglutinina (HA), la neuraminidasa (NA), la nucleoproteína (NP), la ribonucleoproteína, nucleocápsida o RNP (reunión de la NP con el RNA viral), las tres grandes proteínas PB2, PB1 y PA, la proteína matriz (M1) y la proteína M2.

Existen además dos proteínas virales no estructurales que se detectan en las células infectadas (NS1 y NS2).

El virión posee una masa molecular de $2,5 \times 10^6$ g, siendo su densidad en una solución de sacarosa de $1,19 \text{ g/cm}^3 S_{20w}$ y para las partículas no filamentosas, de $700 \text{ a } 900 \text{ g/cm}^3 S_{20w}$.

El genoma de estos virus está compuesto por ARN lineal, es una molécula única, de cadena simple, de polaridad negativa, segmentado, con tamaños comprendidos entre 890 y 2 341 nucleótidos con secuencias conservadas y, parcialmente, complementarias en los extremos terminales 5' y 3'. Su peso molecular es de 4×10^6 kDa con 10 y 13 kb.

Para los tipos A y B, el genoma está constituido por 8 segmentos de ARN y 7 segmentos para el tipo C. Cada segmento codifica una proteína viral, excepto el 7 y el 8 que contienen dos genes (M y NS). Los genomas de los virus de influenza A, B y C han sido secuenciados completamente. Los virus de influenza A codifican para aproximadamente 13 600 nucleótidos(nt), los de influenza B para 14 600 nt y los virus de influenza para aproximadamente 12 900 nt.

Los virus *Dhori* y *Thogoto*, son estructuralmente similares a los *Orthomyxovirus* y tienen seis o siete segmentos de ARN.

La composición química del virión es la siguiente: las proteínas constituyen entre el 70 y 75 % del peso del virión, los lípidos entre el 18 y 37 %, los carbohidratos de 5 a 9 %, y el RNA el 1 %.

Los virus de influenza son relativamente más resistentes o estables que otros virus, pueden almacenarse entre 0 y 4°C durante semanas, sin pérdida de su viabilidad, a -70°C y liofilizado. Los viriones son muy sensibles al calor, radiaciones UV y a la acción de solventes orgánicos y compuestos químicos como el éter, formaldehído, detergentes y agentes oxidantes que destruyen su infectividad.

PROTEÍNAS VIRALES

Subunidades de polimerasa (PB1, PB2 y PA)

Los tres segmentos mayores del genoma viral (1, 2, 3), codifican para las tres subunidades de polimerasa del virus de influenza (PB2, PB1, PA), con pesos moleculares de 86,5 kD; 83 kDa y 80 kDa, respectivamente (Cuadro 67.1).

Cuadro 67.1. Influenza virus. Segmentos ARN. Componentes del virión. Funciones

Proteínas	Segmentos ARN	Polipéptidos	No. Aproxim. mol/virión	PM aproximado kDa	Componentes del virión	Función
1.PB2	2341	759	16-24 (8)	86	Polimerasas. Asociadas con el complejo de ribonucleoproteínas	Implicadas en varias etapas de la síntesis de ARN
2.PB1	2341	757	16-24 (8)	83		
3.PA	2233	716	16-24 (8)	80		
4.HA	1778	566	350-400 (HA)	HA1-58	Glicoproteína de superficie. Unión a receptores celulares	Responsable de la (HA1) y de su función de la membrana viral y celular (HA2)
				HA2-24	Trímero, determinante antigénico del virus	
5.NP	1565	498	630-1 000	56	Forma parte de la nucleocápsida helicoidal	Proteína asociada al ARNv. Aprox. 1 mol cada 20 nucleótidos. Asociada a procesos de morfogénesis y replicación
6.NA	1413	454	50(tetrámeros) 15(monómeros)	60 NA-51 NB-12	Glicoproteína de superficie	Actividad de neuraminidasa
					Tetrámero	Ayuda a liberar el virus de la célula
7.M	1027	M1-252	1100	25	Proteína mayoritaria. Envuelve al complejo RNP	Estabiliza la estructura viral Implicada en la morfogénesis viral
		M2- 97	14-68	15	La mayoría no incorporada al virión	Morfogénesis. Resistencia a la amantadina
8.NS	890	NS1-230		31	Proteína no estructural	Ambas (NS1 y NS2) pueden estar implicadas en la regulación de la proteína. PA en el núcleo de las células infectadas
		NS2- 121		13	Proteína no estructural	Actualmente se han identificado 3 funciones en los virus de influenza A, de la NS1: la inhibición de la exportación nuclear de poly (A) conteniendo ARNm, del pre-ARNm y la inhibición de la activación de PKR Se sugiere su implicación en la replicación del genoma viral

Las proteínas PB1 (polimerasa), PB2(endonucleasa) y PA(proteolítica), se unen a la RNP viral y actúan en la transcripción del ácido nucleico.

La proteína PB2 tiene un papel importante en los procesos de síntesis del ARN y en la regulación de la expresión viral.

Se sugiere que la proteína PA, está implicada en la síntesis de ARN de polaridad negativa.

HEMAGLUTININA (HA)

La hemaglutinina constituye una de las tres principales proteínas de superficie de los virus de influenza y su principal determinante antigénico. Deriva su nombre por poseer la propiedad biológica de aglutinar glóbulos rojos de diferentes especies animales y en determinadas condiciones. Este fenómeno llamado hemaglutinación, se utiliza para detectar y cuantificar el virus.

El segmento 4 codifica la proteína HA, de unos 61,5 kDa. Es una de las dos glicoproteínas de la envoltura viral y es la responsable de la unión del virión a los receptores de las células susceptibles.

La HA es un trímero. Las tres subunidades a que nos referimos son idénticas. Cada subunidad consta de dos regiones que difieren estructuralmente: la cadena HA1, es un dominio globular en la región distal de la molécula, que contiene el sitio de unión al receptor (acople al ácido siálico) y los determinantes antigénicos y la cadena HA2 forman una estructura de tallo rica en alfa-hélice, la cual se extiende 76 Å al exterior de la membrana.

Se caracteriza además la HA, por una estructura de tres dominios: un gran dominio hidrofílico, otro hidrofóbico carboxiterminal, pequeño y otro también pequeño (10-14 residuos de aminoácidos) hacia el interior de la membrana celular.

La hemaglutinina se fija a los receptores mucoproteicos de las células del epitelio respiratorio e interviene en la penetración, por lo que se considera esencial para la infectividad del virus.

La escisión que separa la HA1 de la HA2, es un requisito para que la partícula viral sea infectante y puede tener lugar dentro o fuera de la célula mediante las abundantes proteasas celulares en el ambiente del aparato respiratorio. Las partículas virales con la HA no escindida, pueden adherirse a los receptores celulares, pero no son infectantes.

La unión de la HA al receptor celular (sitio activo o de adhesión viral), tiene lugar por una zona conservada en forma de bolsa, localizada en la parte superior de cada glóbulo grande, de pocos aminoácidos y situada en el extremo distal de HA1. La bolsa es inaccesible al anticuerpo. En el caso de HA2 se le responsabiliza con la fusión a la membrana celular a través del llamado péptido de fusión de 25 residuos de aminoácidos, el cual se encuentra hacia el interior de la molécula y es expuesto para la fusión tras cambios conformacionales que debe sufrir HA.

El análisis de las variantes del virus ha identificado cinco sitios antigénicos (A, B, C, D, E) sobre la molécula HA, los cuales muestran mutaciones extensas.

La proteína HA es el principal antígeno del virus, contra el cual va dirigida la respuesta inmune neutralizante (anticuerpos protectores). Además, su variabilidad antigénica que se traduce en la aparición de nuevas cepas, es el principal factor desencadenante de las epidemias y pandemias de gripe.

NUCLEOPROTEÍNA (NP)

El segmento cinco codifica la proteína NP, de 56 kDa, rica en residuos de arginina y con carga neta positiva a pH neutro.

Se ha involucrado con la transcripción y se encuentra enlazada a los 8 segmentos del ARN genómico, formando una estructura, la RNP, que asume configuración helicoidal.

Posee especificidad de tipo, que se utiliza en la clasificación de estos virus en los tipos A, B y C.

NEURAMINIDASA (NA)

Esta es otra de las proteínas de superficie del virus influenza, codificada por el segmento seis y cuya estructura la conforma un tetrámero en forma de bloque, compuesto de 4 monómeros idénticos, unidos a la partícula viral por un tallo delgado, con aspecto de hongo. Cada bloque tiene un sitio catalítico, por lo que cada espícula posee cuatro sitios activos.

Esta enzima aparece en menor cuantía que la HA y se le atribuye actividad hidrolasa, (enzima sialidasa, que retira el ácido siálico de los glucoconjugados).

La neuraminidasa, es imprescindible para que ocurra la fragmentación de HA por las proteasas de la célula hospedera durante la infección.

Otra importante función de la neuraminidasa relacionada con su actividad hidrolasa, es la de facilitar la liberación de la progenie viral de la célula hospedera infectada durante el proceso de gemación, por la destrucción de ácidos siálicos celulares, que son receptores del virus, lo que evita la agregación viral en las fases finales del ciclo replicativo y evita la readsorción de los viriones.

La NA, es importante como antígeno. Los anticuerpos anti-NA, no son neutralizantes, salvo a altas concentraciones, pero reducen tanto el título del virus, como las lesiones en pulmón. Su variabilidad antigénica es alta como la de la proteína HA.

PROTEÍNAS M1 Y M2

El segmento siete genera tres especies de ARNm, aunque sólo se ha identificado el producto de traducción de uno de estos ARNm procesados, la proteína M2.

La proteína M1 o proteína matriz, de 27,8 kDa, es la más abundante componente viral (casi el 40 % de la proteína viral), asociada con la superficie interna de la membrana lipídica del virus, formando una capa y está asociada a las RNPs en el virión.

Sus funciones son varias durante el ciclo de la infección viral: dar estabilidad a la cubierta viral (morfogénesis de la partícula) y se ha sugerido su implicación en el ensamblaje del virus y salida de los viriones de la célula. Posee especificidad de tipo, que se utiliza en la clasificación de estos virus, en tipos A, B y C.

El polipéptido M2 es una proteína integral de membrana de 11 kDa que se acumula en la membrana plasmática de la célula infectada y se inserta también en la envoltura del virión en forma de tetrámeros que constituyen los canales transmembrana.

Se ha sugerido además, su implicación en dos procesos del ciclo de replicación viral: la disociación de las RNPs de la cubierta de M1 al inicio de la infección, lo cual es necesario para el posterior transporte de las RNPs al núcleo, desempeña una importante función en la formación del endosoma viral y en la regulación de la maduración de la HA.

La M2 es el blanco de las drogas antigripales, amantadina y rimantadina y los anticuerpos contra la M2 están asociados con la reducción de la replicación viral.

PROTEÍNAS, NS1 Y NS2

El segmento ocho codifica dos polipéptidos, NS1 y NS2 de 31 y 13 kDa, respectivamente, considerados proteínas no estructurales.

La NS1, es codificada por un ARNm colinear con el ARNv, mientras que la NS2, se genera a partir de un ARNm procesado.

La NS2, se sintetiza tardíamente y se acumula en el núcleo de la célula infectada. Sus funciones no están esclarecidas, aunque se sugiere su implicación en la replicación del genoma viral.

La NS1 y NS2, pueden estar implicadas en la regulación de la proteína PA en el núcleo de las células infectadas.

VARIABILIDAD ANTIGÉNICA DEL VIRUS DE LA GRIPE

Una característica de los virus con genoma ARN, es su alta variabilidad genética y antigénica, lo que acarrea importantes consecuencias biológicas.

La gran variabilidad antigénica del virus de la gripe hace que la infección por este, se desarrolle en forma de brotes epidémicos, generalmente, y pandemias, con altos índices de morbilidad y grandes costos económicos.

La clave del potencial epidémico de este virus reside en la gran variabilidad de las dos glicoproteínas de superficie, la HA y la NA. Por eso, tan pronto como se genera una respuesta inmune en la población aparece un “nuevo virus” que la elude, no siendo posible hasta el momento actual controlarla por medio de la vacunación.

Solamente los virus de influenza tipos A y B causan enfermedad relevante clínicamente. Los virus de influenza A, son además subdivididos sobre la de sus dos antígenos superficiales, la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA). Las cepas de influenza que han afectado al humano son: A(H1N1), A(H2N2) y A(H3N2). Muy recientemente el virus de la influenza aviar A(H5N1) fue aislado de humanos en Hong Kong, el cual provocó una alta mortalidad.

Los virus del tipo A pueden infectar además, caballos, cerdos, una larga variedad de aves y al humano; mientras que el tipo B infecta humanos solamente.

Se han descrito dos mecanismos que contribuyen a este cambio: salto antigénico o *shift* y desviación antigénica o *drift*.

En el salto antigénico (*shift*), es un cambio grande, en uno o ambos antígenos superficiales del virus. Implica la aparición de una HA nueva, que puede ir acompañada por la aparición de una nueva NA también. Se han identificado 15 subtipos antigénicos de HA y 9 de la NA.

La causa más probable es la redistribución o reordenamiento de segmentos de ARNv en células coinfectadas con cepas de virus de influenza A humano y de animales, puede ser el responsable del surgimiento de una nueva cepa pandémica. Sin embargo, el reordenamiento de genes entre los virus de diferentes tipos no ha sido reportado.

Desde 1933, se han detectado en varias ocasiones saltos antigénicos. En 1957, el subtipo A(H1N1), fue reemplazado por el H2N2 y este a su vez, sustituido en 1968, por el H3N2. En 1977, reapareció el subtipo H1N1 y actualmente están cocirculando los subtipos A(H3N2), A(H1N1) y el tipo B.

La desviación antigénica (*drift*), se da dentro de un mismo subtipo. Implica una serie de mutaciones puntuales o cambios genéticos menores que se acumulan en los determinantes antigénicos del virus y que confieren a este una cierta resistencia a la neutralización por los anticuerpos preexistentes en la población.

La variabilidad genética se ha estudiado utilizando diversas metodologías entre las que se encuentran la secuenciación de genomas de virus aislados en diferentes períodos, el mapeo de oligonucleótidos, y la detección de desapareamientos susceptibles a digestión por RNasa A en heterodúplex RNA:RNA y la caracterización de cepas utilizando anticuerpos monoclonales.

ORIGEN DE LAS PANDEMIAS

Actualmente hay tres teorías para explicar la emergencia de virus pandémicos:

1. Reordenamiento genético, que ocurre entre virus humanos o entre virus humanos y animales.
2. Transferencia directa entre virus humanos y animales.
3. Reemergencia de virus de reservorios no conocidos o insospechados.

La primera teoría está basada en el hecho de que los virus que produjeron pandemia, la cepa A(H2N2), de 1957, y la cepa de 1968 contienen genes derivados de virus de influenza aviar y virus humanos.

Tales coinfecciones hacen posible que tengan lugar reordenamientos, de los cuales pueden ser seleccionadas aquellas cepas nuevas que tienen propiedades para convertirse en cepas humanas epidémicas, por medio de una serie de transmisiones entre animales o humanos durante extensos períodos.

La posibilidad para la transferencia de virus aviar al hombre, sin reordenamiento, fue confirmada cuando la cepa patógena, de influenza aviar A(H5N1), causó un número limitado de infecciones, al producir en algunos una seria enfermedad y muerte en residentes de Hong Kong, en 1997.

Superpuesta a estas dos teorías existe la posibilidad de que sólo, ciertos subtipos de HA (H1, H2 y H3) tienen potencial epidémico humano y que estas reciclan en el humano en algunas formas. Esta teoría está basada en estudios seroarqueológicos, en personas que vivieron inmediatamente antes de un período pandémico. Esta puede admitirse como una tercera teoría, aunque es difícil explicarse dónde se ocultan o mantienen los virus de la influenza durante tantos años.

CICLO INFECTIVO

INICIACIÓN

El proceso de infección de células susceptibles a virus de la gripe se inicia cuando la HA, en su porción distal, mediante la interacción del sitio activo, se une al receptor de la membrana celular (adsorción). Este receptor es un oligosacárido que contiene ácido siálico. Posteriormente el virus es incorporado a la célula mediante un proceso de endocitosis en vesículas, que se unen a los lisosomas para formar endosomas con un pH ácido, que provoca un cambio conformacional en la proteína HA y la fusión (del péptido de fusión HA2). Posteriormente se pierde la cubierta, liberándose el complejo de RNPs en el citoplasma celular.

Los RNPs, se disocian de la cubierta de M1, en un proceso en el que puede estar implicada la actividad translocadora de protones de M2.

TRANSCRIPCIÓN Y REPLICACIÓN

Desde el citoplasma el complejo de RNPs migra al núcleo donde los segmentos de ARN_v forman dos tipos de transcritos diferentes. El transcrito mayoritario es el ARN_m. Estos ARN_m se traducen en las correspondientes proteínas virales en el citoplasma celular, bloqueando la traducción del ARN_m del hospedero, a pesar de la presencia de altos niveles de ARN_m celular funcional en el citoplasma de las células infectadas.

El segundo transcrito (ARN_c), es una copia completa de cada segmento de ARN_v y es utilizado como molde para la síntesis de ARN viral progenie. La síntesis del ARN viral está catalizada por el complejo formado por la nucleoproteína y las polimerasas.

Seis de los segmentos del genoma producen ARN_m monocistrónicos que se traducen en el citoplasma en seis proteínas virales. Los otros dos transcritos se empalman (*splicing*) y cada uno produce dos ARN_m traducidos en diferentes marcos de lectura.

En esta fase, los principales productos de traducción son NP y NS1, los cuales migran al núcleo donde presumiblemente NP promueve el paso de la síntesis de ARN_m a ARN_c o transcripción secundaria.

El ARN_c representa el 5 % del ARN_v de polaridad positiva en las células infectadas, no abandona nunca el núcleo y allí se asocia con la matriz nuclear; se encápsida y sirve de molde para nuevos ciclos de transcripción y replicación (Fig. 67.2).

Durante esta fase temprana de la infección, la síntesis de los tres tipos de ARN específicos virales está acoplada, mientras en la fase tardía se sintetiza, fundamentalmente, ARN_v.

El complejo de las polimerasas, es la responsable principal de la transcripción.

Se considera a la polimerasa PB1 como la proteína responsable de los procesos de iniciación y elongación del ARN_m viral y a la polimerasa PB2 como la proteína implicada en el reconocimiento del "cap" presente en el extremo 5' del ARN celular y posiblemente también, en la ruptura endonucleolítica que sufre este, antes de ser utilizado como iniciador en la síntesis de ARN_m. El papel que la proteína PA desempeña en los procesos de síntesis de ARN todavía se desconoce. Se ha sugerido que, además de la función estructural, la nucleoproteína es esencial en la replicación del ARN_c que sirve de molde al ARN viral. Los productos que se traducen en mayor cantidad en la fase tardía de la infección, son las proteínas HA y NA, que se modifican a través de la vía secretoria, y son transportadas hasta la superficie celular. La HA y NA, se sintetizan en el retículo endoplásmico y se ensamblan en trímeros y tetrámeros, respectivamente y se insertan en la membrana plasmática.

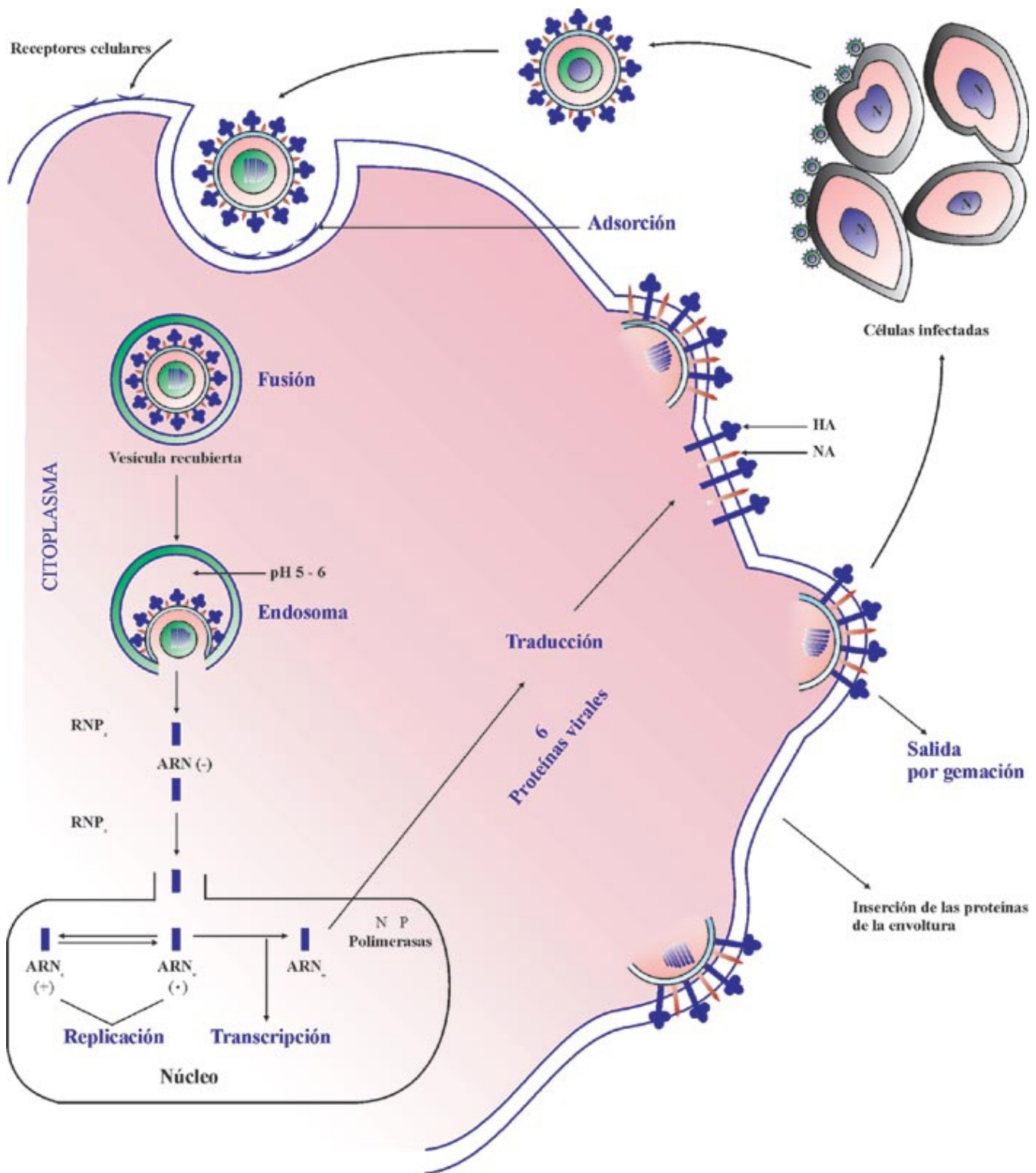


Fig. 67.2 Ciclo replicativo del virus de influenza.

La proteína M1, que se acumula en el núcleo participa en la modulación del transporte de la RNP fuera del núcleo, sirve como puente para unir la nucleocápsida a los extremos citoplasmáticos de las glicoproteínas, de la nueva progenie viral, en el citoplasma, junto a la cara interna de la membrana celular.

Los componentes individuales virales llegan al sitio de gemación por diferentes rutas. Las nucleocápsidas se ensamblan en el núcleo y se desplazan fuera de la superficie celular.

El último paso del ciclo infeccioso lo constituye el ensamblaje de las nuevas proteínas con los ARNv recién sintetizados. Ambos productos se transportan a la cara interna de la membrana plasmática celular donde se ensamblan en estructuras en las zonas donde estaban insertadas las glicoproteínas de superficie HA y NA.

MORFOGÉNESIS

El paso inicial en la *morfogénesis* del virus se produce con la inserción de la HA y de la NA en la membrana plasmática celular. También la matriz y el complejo de RNPs migran hacia la membrana plasmática donde, presumiblemente, la matriz forma un caparazón alrededor de las RNPs e interacciona con los dominios citoplasmáticos de la HA y de la NA, dando lugar a las nuevas partículas virales.

SALIDA

Finalmente, las partículas virales constituidas salen de la célula por gemación a partir de la superficie apical de la célula, quedando envueltas por una bicapa lipídica procedente de la célula infectada, conteniendo las glicoproteínas virales de superficie HA, NA y M2. La actividad sialidasa de la proteína NA, contribuye a la salida de los viriones de la célula infectada al evitar su agregación y la formación de grandes grupos de partículas debido a la afinidad del sitio de enlace de la HA por el ácido siálico.

Todo este proceso va precedido o acompañado de una parada en la síntesis de proteínas celulares. De esta manera, la célula huésped infectada sintetiza grandes cantidades de proteínas virales que se dirigen a la parte apical de la membrana. Esto se debe probablemente a un mecanismo de transporte vectorial del virus, hacia la membrana plasmática donde ocurre la gemación.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La influenza es una infección viral de las vías respiratorias, aguda y contagiosa causada por los virus de influenza, que primariamente invade la mucosa respiratoria, provocando marcados síntomas sistémicos. En la mayoría de los casos, se transmite de persona a persona por vía aerógena (gotitas de saliva), en un corto período.

En dependencia del grado de inmunidad a la cepa circulante, el cuadro puede ser asintomático, presentándose en la mayoría de los casos infecciones leves o inaparentes; o sintomático e incluso grave en pacientes predispuestos por alguna patología crónica.

La influenza clásica se presenta abrupta o súbitamente con síntomas sistémicos y comunes que incluyen fiebre alta, malestar general, escalofríos, cefalea, mialgias, postración y síntomas respiratorios como: tos seca, estornudos, secreción nasal abundante, enrojecimiento de la conjuntiva, dolor de garganta, anorexia y adenopatías cervicales. La fiebre, es el signo más prominente y los signos sistémicos desaparecen usualmente después de 3 a 5 días, pero los signos respiratorios se incrementan con aumento de la tos seca que cambia frecuentemente a productiva, con inflamación subesternal. La recuperación es total, en un período de 2 a 4 semanas.

Estos síntomas corresponden a cualquier cepa del tipo A ó B. En la infección por el tipo B, predominan la miositis y la miocarditis, pudiendo desarrollarse también complicaciones neurológicas como encefalitis, meningitis, polineuritis, síndrome de Reye y Guillian Barré (especialmente después de campañas de vacunación con el tipo B).

En los niños la sintomatología es similar a la observada en los adultos, pero la fiebre es más alta, y pueden ocurrir las convulsiones febriles. También hay mayor incidencia de manifestaciones gastrointestinales como náuseas, vómitos, dolor gastrointestinal y diarreas.

En menores de un año, la enfermedad es más severa, debido a la poca inmunidad y el pequeño calibre de las vías aerógenas; en estos casos pueden observarse manifestaciones clínicas de crup, bronquiolitis, laringotraqueítis, vómitos, diarrea y manifestaciones neurológicas como apnea, convulsiones febriles frecuentes y meningitis (más frecuente por el tipo B).

En los adolescentes, la otitis, sinusitis y la neumonía complicada se manifiestan en el 5 % de los casos.

La influenza C origina el resfriado común y no se encuentra implicado en la producción de epidemias.

Las complicaciones más importantes de esta enfermedad se presentan como tres síndromes pulmonares diferentes: la *neumonía viral primaria*, *bacteriana secundaria* y *una combinación de ambas*.

Por lo general, las complicaciones graves se presentan en las edades extremas de la vida (menores de un año y mayores de 65 años) y en pacientes debilitados con enfermedades crónicas (cardiopulmonares, renales, inmunológicas, etc.).

La *neumonía viral primaria*, aparece en el curso clínico de la enfermedad, en individuos de alto riesgo para las complicaciones. El caso típico se presenta en forma abrupta, con síntomas como taquicardia intensa, cianosis, fiebre alta e hipotensión, expectoración hemoptoica y taquicnea. La enfermedad progresa rápidamente hacia la muerte entre 1 y 4 días.

La *neumonía bacteriana secundaria*, cuyos agentes etiológicos más comunes son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, y algunos gérmenes gramnegativos.

Y una combinación de ambas, neumonía viral-bacteriana, es tres veces más común que las citadas anteriormente.

El *síndrome de Reyé*, es una encefalopatía aguda, con degeneración grasa del hígado que se presenta fundamentalmente en niños y adolescentes, entre 5 y 14 años de edad y una tasa de mortalidad alta (10-40 %), aunque se desconoce la etiología se ha asociado a los virus de la influenza tipo B, A y a otros agentes virales.

La influenza A exacerba el asma y se asocia al embolismo pulmonar.

PATOLOGÍA

El virus de la influenza induce cambios patológicos en el tracto respiratorio. Se ha observado que la infección de las células del epitelio respiratorio ocurre entre el primer y el cuarto días (período de incubación), dependiendo de la dosis viral y del estado inmunitario del huésped. La NA viral, disminuye la viscosidad de la película de moco de la vía respiratoria, dejando expuestos los receptores de la superficie celular, facilitando la propagación del virus al tracto respiratorio bajo, e infectándose muchas células en un período corto. Los viriones se producen con rapidez y se propagan a las células adyacentes, repitiéndose el ciclo de replicación que se inicia el día que precede al inicio de los síntomas, alcanza las primeras 24 h y se mantiene elevado durante uno o dos días, declinando luego con rapidez, muriendo estas finalmente.

El proceso destructivo y reparativo, puede estar presente simultáneamente. Durante el tercer y quinto días, después del comienzo de la enfermedad, la mitosis comienza en la capa de células basales, iniciándose la regeneración del epitelio. La resolución completa de la necrosis epitelial probablemente tarda un mes.

Los *síntomas locales* pueden explicarse por el edema y la infiltración de mononucleares, en respuesta a la descamación producida por la replicación del virus y por la muerte celular.

Los *síntomas sistémicos* notables observados en la influenza son difíciles de explicar, aunque sugieren propagación del virus, muy raras veces se recuperan virus infectivos de la sangre (viremia), orina (viuria) y tejido pulmonar.

INMUNIDAD

La infección en el individuo por los virus de influenza, tanto clínica como inaparente conduce a la inmunidad duradera y específica de subtipo, siendo mediada, fundamentalmente, por anticuerpos contra las glicoproteínas de la superficie viral (HA y NA). Los anticuerpos contra otras proteínas codificadas por el virus no son protectores.

INMUNIDAD HUMORAL Y CELULAR

En la mayoría de las infecciones naturales ha sido demostrada la respuesta de anticuerpos séricos. En la respuesta primaria se producen anticuerpos IgM e IgA, que alcanzan el nivel máximo hacia la segunda semana. Los niveles de anticuerpos IgG se alcanzan una semana más tarde y son más duraderos. En infecciones secundarias por el mismo agente, se producen anticuerpos IgA e IgG.

En la influenza o gripe se produce una forma particular de respuesta a los antígenos del virus, fenómeno llamado “pecado original”, que describe cómo la primoinfección marca la memoria inmunológica del individuo

Los tres tipos de virus de influenza guardan interrelación antigénica y no inducen, por tanto, protección cruzada. La resistencia al desarrollo de la infección se vincula con los anticuerpos neutralizantes específicos contra la HA. Se establece que un título de anticuerpos séricos inhibidores de la hemaglutinación (IH), $\geq 1:40$, está asociado con cierta protección contra los virus homólogos, ya sea alcanzada por infección natural o por vacunación y persiste durante muchos meses o años. Sin embargo, los anticuerpos antineuraminidasa, están asociados con la menor capacidad para transmitir el virus a los contactos (menor liberación del virus de las células infectadas) y menor gravedad de la enfermedad, como consecuencia de la menor difusión del virus.

Los anticuerpos contra la RNP (ribonucleoproteína) son específicos de tipo y se utilizan para la tipificación de los virus de influenza aislados, en tipo A, B ó C.

Los anticuerpos secretorios locales son de corta duración, pero son importantes para prevenir la infección. La IgA secretoria del tracto respiratorio es fundamental en la respuesta inmune protectora contra la influenza, resulta importante en la prevención, y puede ser la responsable de la mayor inmunidad inducida por la infección, teniendo en cuenta que la adhesión y multiplicación de estos virus ocurren en el tracto respiratorio.

A veces la inmunidad es incompleta, y puede ocurrir la reinfección con el mismo virus.

La función del interferón es importante también en la respuesta temprana, tanto en la inhibición directa de la replicación viral, como en la activación de las células agresoras naturales (NK o natural killer) que pueden producir la lisis de la célula infectada antes que los linfocitos T estén activados. Esta liberación de interferón podría ser importante para limitar la propagación del virus durante la infección, pues su actividad inmunorreguladora induce la producción de linfocitos T citotóxicos, activa los macrófagos y las NK y, además, regula la producción de anticuerpos por las células B entre otras funciones.

En el desarrollo de la infección gripal, además de la respuesta inmune inciden otros factores que no dependen de la naturaleza antigénica del virus como son, las dosis infecciosas y la susceptibilidad del huésped, que incluyen: estado fisiológico y edad, que además de su repercusión habitual, en esta enfermedad suele condicionar el grado de experiencia del paciente a los antígenos gripales como fruto de anteriores infecciones.

DIAGNÓSTICO

Generalmente, el diagnóstico de laboratorio de la influenza se realiza con el propósito de confirmar la presencia del agente en la comunidad, su caracterización antigénica y realizar estudios epidemiológicos.

El diagnóstico presuntivo se realiza basándose en características clínicas y epidemiológicas.

El diagnóstico de laboratorio abarca:

1. Demostrar la presencia del virus o sus antígenos en las células infectadas.
2. Aislamiento viral.
3. Demostrar el aumento de anticuerpos específicos o diagnóstico serológico.

AISLAMIENTO VIRAL

Como en la gran mayoría de las infecciones virales, la base para el diagnóstico de los virus de influenza es el aislamiento, siendo fácil realizarlo en períodos epidémicos y difícil en caso de gripe esporádica.

Las mejores muestras las brindan los raspados o lavados nasofaríngeos tomados en los primeros días después de aparecer los primeros síntomas de la enfermedad.

Las muestras serán trasladadas al laboratorio a bajas temperaturas (4 °C en hielo húmedo o seco). Si las muestras no pueden ser inoculadas inmediatamente deben ser congeladas a -70 °C.

En los casos mortales (neumonía por influenza), se tomaran muestras de tejido pulmonar, mucosa traqueal y sangre durante la autopsia.

Antes de ser inoculadas debe añadirles una solución de antibióticos (penicilina y estreptomina) para evitar el crecimiento bacteriano.

Los sistemas más utilizados para el aislamiento de virus de influenza son el huevo embrionado y el cultivo celular. Los virus se cultivan en huevos embrionados. Este resulta el sistema hospedero animal más simple, económico y ampliamente utilizado.

El uso de sistemas diferentes a los cultivos primarios de riñón requiere la presencia de tripsina para activar las moléculas de HA y garantizar la penetración viral.

El efecto citopático (ECP) que producen estos virus no es patognómico y puede no aparecer hasta después de múltiples pases.

El virus tipo B, es el que ocasionalmente produce efectos citopáticos, observándose inclusiones citoplasmáticas y basófilas características, retracción del citoplasma, redondeamiento celular, vacuolización, granulación, agrandamiento del nucleolo, etc. El tipo A produce menos ECP, pero la presencia de estos virus se evidencia a los 5 y 7 días mediante la técnica de hemadsorción, con el empleo de hematíes de curiel.

La identificación de los aislamientos y su caracterización se realizan mediante la inhibición de la hemaglutinación (IH), en presencia de sueros hiperinmunes de referencia que incluyen las hemaglutininas del tipo A (H1, H2 y H3) y el tipo B, fundamentalmente de actual circulación. Mediante esta reacción se llega al diagnóstico de tipo y subtipo del agente gripal aislado.

Pueden realizarse otras pruebas para detectar los componentes tipo específicos o antígenos profundos (NP y M), mediante la fijación del complemento (FC) que permite clasificar a los virus de la influenza en sus tipos A, B, C y la doble inmunodifusión (DID), que además identifica en subtipos, pero requiere que el virus sea tratado con detergentes.

Para la determinación de los antígenos superficiales HA y NA, se podrían utilizar las reacciones de IH y de inhibición de la neuraminidasa (IN).

Otras pruebas con procedimientos más complejos serían la hemólisis radial simple (HRS) y la neutralización (Nt). Se han desarrollado nuevas técnicas, como la inmunofluorescencia directa e indirecta, que ha resultado ser un método de elección para el *diagnóstico práctico y rápido de las IRA*, por ser sensible, específico y relativamente económico. Este método permite demostrar la presencia del virus o sus antígenos en las células del epitelio del tracto respiratorio superior (secreciones o lavados nasales), y brinda además información sobre el tipo y subtipo de estos virus. También se han probado técnicas inmunoenzimáticas, como: ELISA, e inmunoperoxidasa con excelentes resultados de sensibilidad, especificidad y rapidez. Actualmente se reporta para la realización de muchas de estas técnicas el empleo de los anticuerpos monoclonales.

Se han desarrollado: la microscopia electrónica; métodos fisicoquímicos de cromatografía; electroforesis y otros que ofrecen datos a partir del estudio del genoma viral, como: reacción en cadena de la polimerasa (PCR), hibridación de ácidos nucleicos; mapeo de oligonucleótidos; la digestión de productos amplificados con enzimas de restricción, secuencias de ácidos nucleicos, disponiéndose de una tecnología capaz de revelar los cambios que ocurren en estos virus a nivel molecular, de gran importancia en la epidemiología y el control de la influenza.

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

El diagnóstico serológico de la influenza puede hacerse sobre la base de un aumento significativo de anticuerpos para cualquiera de los cuatro antígenos del virión (M, NP, HA y NA).

Para fines diagnósticos se requiere un incremento significativo en el título de anticuerpos entre los sueros de la fase aguda y la fase de convalecencia, ya que la mayoría de las personas han estado en contacto con los virus de influenza y han tenido varios episodios de la enfermedad a través de su vida, desarrollando anticuerpos contra estos virus.

La técnica clásica o serológica más utilizada internacionalmente para la detección de anticuerpos contra la HA es la IH.

Para determinar niveles de anticuerpos contra la NA, se han usado la IN y la DRS. En la actualidad se utilizan, frecuentemente, las técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) para la determinación de anticuerpos vacunales específicos, además, de la HRS.

EPIDEMIOLOGÍA

Aunque en este siglo sea una posibilidad real la eliminación de la poliomielitis, el sarampión, la parotiditis y otras enfermedades infectocontagiosas, la prevención de la influenza epidémica y pandémica aún no se ha logrado.

Las características epidemiológicas de los tres tipos de virus de la influenza difieren entre sí. La principal característica de los virus de influenza tipo A, es su rápida propagación y tendencia epidémica, que a veces se convierten en severas pandemias, de las que se han argumentado cinco en el siglo pasado; se presenta, además, en brotes de diferentes magnitudes, o extensas epidemias, como resultado de su variabilidad antigénica. Es importante, además, por la morbilidad extensa y la gravedad de las complicaciones, en particular, las neumonías vírica y bacteriana.

Durante las grandes epidemias, los casos más graves y la muerte se producen, principalmente, en los ancianos y las personas debilitadas por enfermedades crónicas cardiopulmonares, renales o metabólicas, anemia o inmunosupresión.

Los virus de tipo B, han sido responsables de epidemias no tan extensas, que se difunden lentamente y de brotes localizados, afectando, fundamentalmente, a los niños, con una difusión particular entre escolares, presentándose cada 5 ó 6 años, a veces concomitando con brotes por el tipo A.

Los virus del tipo C, causan una enfermedad respiratoria leve, esporádica y brotes localizados pequeños, y poca diseminación y no se presenta en forma epidémica.

Se han identificado como agente infeccioso tres tipos de virus de influenza: A, B y C. El tipo A incluye tres subtipos (AH_{1N1} , AH_{2N2} y AH_{3N2}), que han causado epidemias extensas y pandemias. La mutación frecuente de los genes que codifican las glicoproteínas de superficie de los virus de la influenza A y de influenza B suscita el surgimiento de variantes.

La influenza, es de distribución universal. En los últimos 100 años o más, hubo pandemias en 1889, 1918, 1957 y 1968.

Las epidemias se presentan casi cada año, causadas principalmente por los virus de tipo A. Les siguen en frecuencia el virus B, o por ambos virus.

En las zonas templadas, las epidemias tienden a aparecer en el invierno. En los trópicos se observan en la estación de lluvia, aunque puede variar, pero durante todo el año pueden presentarse brotes o casos esporádicos.

Las infecciones por el virus de influenza con diferentes subtipos antigénicos dentro del tipo A, surgen naturalmente en cerdos, caballos, visones, focas, ballenas, animales domésticos y especies aviarias silvestres en el mundo. Los reservorios mamíferos, cerdos, aves (patos), son fuentes probables de estos nuevos subtipos para el hombre. Así nuevos subtipos de una cepa virulenta, generalmente del tipo A, con nuevos antígenos de superficie ocasionan influenza pandémica al diseminarse en una población no inmune. El hospedero natural del tipo B y C, es el hombre.

El mecanismo de transmisión de estos agentes es a través de las secreciones respiratorias de un individuo con influenza o simplemente por las gotitas de saliva, manos contaminadas, predominando la transmisión en grupos de personas aglomeradas (autobuses, escuelas, teatros). La transmisión puede verse favorecida porque el virus de influenza puede persistir viable en un medio frío durante horas.

No se reporta la infección latente para los virus de influenza, existiendo una cadena de transmisión continua de persona a persona para que el virus se mantenga transmitiéndose.

La transmisión hídrica ha sido sugerida; se plantea que a través del agua de los ríos y lagos contaminados con virus tipo A, provenientes de heces de patos silvestres, con las que se pueden contaminar aves, animales domésticos y también el hombre.

El desarrollo de la sociedad moderna incrementa la necesidad de la transportación rápida de la población humana, lo que facilita la rápida propagación de estos virus.

La morbilidad que ocasiona la influenza A, es la más alta. Cuando comienza a circular una cepa nueva (cambio antigénico mayor en la HA ó NA, inclusive ambas), frente a la cual la población no presenta inmunidad, el virus muestra una difusión mundial, dando lugar a la denominada gripe o influenza pandémica, que provoca elevada morbilidad y mortalidad. Durante las pandemias, ocurre una verdadera catástrofe con todas las consecuencias sanitarias, económicas y sociales que ello implica.

Durante los períodos interepidémicos, aparecen casos de gripe localizados en determinada zona, en forma de brotes epidémicos, ocasionados por variaciones menores del virus (desviación antigénica por mutaciones puntuales en algunas de las glicoproteínas de la superficie).

La susceptibilidad y resistencia a estos virus varían al surgir un subtipo nuevo.

El reciente brote de la nueva cepa de influenza H5N1 en Hong Kong, ilustra la continua amenaza de nuevas cepas pandémicas.

Atendiendo a las características epidemiológicas de esta enfermedad, a sus altos costos económicos y sociales y dada la posibilidad del surgimiento de brotes epidémicos intensos, que causen daños aún mayores en la sociedad, e incluso ante la necesidad de tener el mayor conocimiento posible sobre su comportamiento epidemiológico para hacer frente a una posible pandemia, en Cuba, se está organizado un *Programa integral de atención y control de las infecciones respiratorias agudas*, dentro de las cuales se destaca la influenza como la entidad de mayor incidencia y mortalidad, llegando a constituir la quinta causa de muerte, asociada a las complicaciones con la neumonía. El mismo se fundamenta en la estructura asistencial y hospitalaria de Cuba que alcanza, desde la atención primaria en los médicos de la familia y policlínicos asistenciales en cada área de salud, hasta los hospitales municipales y provinciales.

De esta forma, todo el sistema asistencial tiene definidas sus funciones y la conducta que hay que seguir ante los casos de influenza, incluyendo la terapéutica sintomática definida para los casos no complicados. Iguales previsiones están definidas para los pacientes que llegan a complicarse o de alto riesgo, regulándose el ingreso hospitalario de todo caso complicado que no evolucione favorablemente, según evaluación del facultativo.

Mediante este sistema se monitorea en cada región el comportamiento epidemiológico, lo que permite orientar al sistema sanitario y a las autoridades para la adopción de medidas cuando esto se requiera.

También, dentro de este modelo de asistencia y control se inscribe el *sistema de vigilancia virológica*, mediante el cual se reciben muestras de casos clínicos y serológicas de la población en el Laboratorio Nacional de Referencia para la Influenza, existente en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri".

En el laboratorio se llevan a cabo los diagnósticos correspondiente y se realiza la caracterización antigénica de las muestra. Mediante esta labor se conocen, las cepas que circulan en Cuba y su relación con las cepas que circulan internacionalmente. Al mismo tiempo, se infiere el estado inmunológico de la población.

La mayor efectividad del sistema se alcanza por el alto nivel de integración que se logra entre las funciones asistenciales, de control epidemiológico y las investigaciones virológicas.

PREVENCIÓN Y CONTROL

La infección por influenza es causa substancial de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, aunque en años recientes se han logrado grandes avances en la terapia antiviral, resulta extremadamente difícil encontrar una solución actual, que no sea limitada para la prevención y el control de la influenza.

En el manejo de la influenza aguda se adoptan medidas generales, sintomáticas y terapia antiviral específica. Entre las medidas generales están el reposo, componente importante que sirve además para reducir la diseminación de los virus en la comunidad. El aumento de la

ingestión de líquido por encima de lo normal puede ayudar a recuperar las pérdidas ocasionadas por la fiebre, siendo importante además para mantener el flujo de las secreciones respiratorias, contribuyendo a reducir la probabilidad de infecciones secundarias.

Entre las sintomáticas están los antipiréticos, usados comúnmente para disminuir la fiebre, el dolor de cabeza y otros síntomas sistémicos. La aspirina no debe ser utilizada, sobre todo en niños por su asociación con el síndrome de Reye. Los antitusivos, en ocasiones, son empleados si la tos es muy intensa. La administración de antibióticos no ha demostrado ser útil en el curso normal de una influenza, sin embargo, deben ser utilizados si se sospecha la complicación bacteriana.

Entre los quimioterapéuticos más utilizados pueden citarse el clorhidrato de amantadina, y la rimantadina usados en la quimioprofilaxis y tratamiento contra la infección por virus de influenza A en humanos.

Ambos actúan, después de la adsorción del virus a la célula, pero antes de la transcripción primaria, compiten con el receptor celular e inhiben la replicación viral, bloquean el canal iónico activado ácidamente formado por la proteína M2 del virus. Las cepas resistentes a estas drogas, de virus de influenza A (hasta en un 30 %); pueden ser aisladas *in vitro* e *in vivo*. La quimioprofilaxis y terapéutica oral con amantadina y la rimantadina está confirmada epidemiológica y biológicamente contra los virus de influenza A (H1N1, H2N2 y H3N2). Profilácticamente, durante una epidemia pueden proteger contra la enfermedad entre un 65 y 78 % y en pacientes de alto riesgo, no vacunados, y personal de salud, quienes pueden contribuir a diseminar la infección. Su uso terapéutico en los individuos no complicados con altas temperaturas y menos de 48 h de evolución, disminuye rápidamente los síntomas locales y la fiebre en uno o dos días de tratamiento. Similares efectos beneficiosos se observan en pacientes mayores de 65 años.

Dosis altas de 300 a 500 mg/día se reportan en el tratamiento de la neumonía viral por influenza, en pacientes hospitalizados, sin marcados beneficios. Se refieren además con estas dosis, síntomas significantes del SNC como, depresión, dificultad en la concentración, nerviosismo, disturbios del sueño y gastrointestinales. La rimantadina, es metabolizada por el hígado.

El desarrollo de anticuerpos séricos y secretorios no es inhibido por el tratamiento con amantadina y rimantadina.

En 1972, fue desarrollada la ribavirina (1- β -ribofuranosil-1H-1, 2, 4-triazol-3-carboxamida), análogos de nucleósidos sintéticos de guanosina e inosina. No está definida su función en la prevención y terapéutica de las infecciones de influenza en humanos, aunque se han obtenido buenos resultados con su utilización en aerosoles de 2 a 3 veces al día para reducir la fiebre, síntomas y título viral en adultos con influenza A ó B no complicada. Su administración por vía intravenosa está siendo usada en pacientes individuales con influenza complicada con neumonía o miocarditis.

Ciertos análogos del ácido siálico pueden disminuir la replicación viral, por lo cual impide la liberación del ácido neuramínico de la superficie celular y de la envoltura viral por inhibición del sitio activo de la neuraminidasa y previene además, la autoagregación (Figs. 67.3-6).

Un análogo del ácido siálico designado, *GG167* o *Zanamivir* (4-guanidino-Neu5Ac2en), ha demostrado ser un potente inhibidor selectivo contra la replicación de los virus de influenza A y B *in vitro*, y muy activo contra la actividad enzimática de la NA.

Contra la enfermedad se ha empleado también el interferón alfa 2 recombinante (IFN- α 2) de forma intranasal, observándose propiedades protectoras y atenuación de la diseminación viral.

Actualmente, se utilizan otros compuestos para el control de la influenza tipo A, como el arbidol y los antibióticos como la kistamicina A y B y la oxasolomicina.

El desarrollo significativo de las vacunas de influenza se lleva a cabo entre los años 30 y 40. El aislamiento del virus de influenza humana, en 1933, A/PR/8/34 (H1N1), abrió la posibilidad para la producción de una vacuna contra la enfermedad.

En 1945, quedó registrada la primera vacuna próspera contra la influenza. Fue una preparación cruda del virus de influenza multiplicado en embrión de pollo, pero se reportaron en su aplicación reacciones adversas, tanto locales como sistémicas.

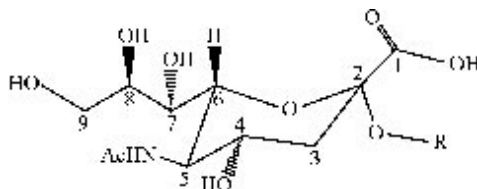


Fig. 67.3 Estructura química de ácido N-acetilneuramínico (como el α sialoside), mostrando los átomos de carbón numerados.

Se inicia ya el obligado proceso de selección anual de las cepas que circulan a nivel mundial, para la confección de la vacuna de cada temporada y al mejoramiento tecnológico de su producción, que trae aparejado una mejor calidad (eliminar la pirogenicidad y reacciones sistémicas de la primera vacuna).

Desde 1977, los virus de influenza A (H1N1), A (H3N2) y tipo B están circulando en todo el mundo. El desarrollo frecuente de variantes antigénicas, ocurrido por cambios menores en estos virus, es de suma importancia su estudio en cada estación epidémica y la razón para la incorporación de una o más cepas nuevas en la vacuna de cada año.

Las cepas incluidas cada año en el programa anual de vacunación y las recomendaciones para su uso está hecho por el *Public Health Service* (PHS).

Para la prevención y el control de la influenza se han ensayado diversos tipos de vacunas tales como: *vacunas de virus completo* (partículas virales separadas del líquido alantoideo), *vacunas de virus desintegrados* (partículas virales tratadas químicamente con detergentes o solventes orgánicos), *vacunas de antígenos superficiales* (esencialmente los antígenos HA y NA) y *vacunas vivas atenuadas* (cepas virales no patógenas en el humano).

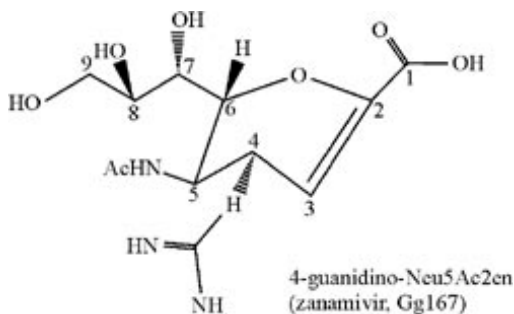
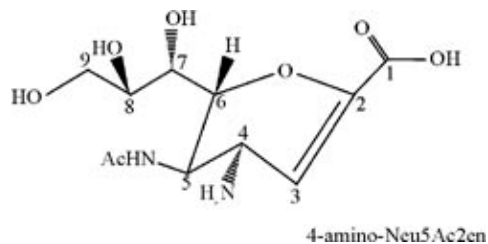
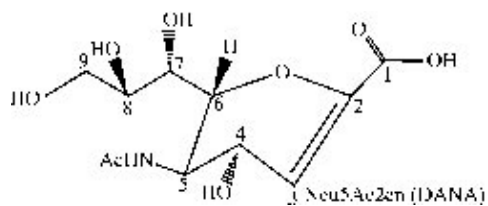
Debido a los problemas de especificidad y duración de la inmunidad inducida, se aplican las vacunas a las personas de riesgo, o a quienes se les indique como protección especial, en general, personas de cualquier edad con trastornos cardiovasculares, broncopulmonares o metabólicos, incluyendo diabetes, y todas las personas mayores de 65 años de edad, además personas quienes pueden transmitir la influenza a los grupos de mayor riesgo como personal médico, enfermeras, etc. La inmunidad que producen estas vacunas es de corta duración. La vacunación debe repetirse anualmente con las cepas seleccionadas, debido a los cambios antigénicos ocurridos anualmente (*drift*) y que obligan a cambiar la composición de la vacuna. La composición de la vacuna puede variar de una región geográfica a otra, pues las vacunas producidas con las cepas de un país, no necesariamente protegerán en todas las regiones. De aquí, la necesidad y la importancia de estudiar cepas aisladas en diferentes partes del mundo.

En los últimos años, la vacuna recomendada es la inactivada y trivalente, con dos subtipos del virus de influenza A (H3N2), A (H1N1) y el tipo B, constituida por los antígenos superficiales purificados (15ug de proteína HA purificada de cada constituyente, equivalente a 10 000 000 000 de partículas virales), que constituyen el principal método de prevención de la influenza actualmente, introduciéndose cada vez más refinamientos en su elaboración.

La única contraindicación de esta vacuna es un antecedente de alergia a la proteína del huevo. La vacuna es segura; su eficacia protectora varía de acuerdo con la edad y si el individuo tiene comprometido su sistema inmunológico con alguna enfermedad crónica.

Con la introducción de técnicas de biología molecular e ingeniería genética se han caracterizado péptidos producidos a partir de genes virales introducidos en bacterias y levaduras, posteriormente purificados para ser utilizados como vacunas.

Las vacunas de ADN, despiertan gran interés actualmente. De igual forma, la presenta-



Figs. 67.4-6 Estructuras química de análogos deshidratados de 2,3 ácido N-acetilneuromínico (ácido siálico).

ción liposomal del Ag de influenza, es otra de las técnicas utilizadas para la producción de vacunas. Siendo los liposomas partículas de la membrana lipídica que se utilizan como vehículos. Los liposomas más utilizados son: lipopolisacáridos, lípido A y el muramilpéptido.

La vacunación debe realizarse antes del comienzo de la temporada de influenza, de modo que los títulos de anticuerpos puedan estar en sus niveles pico cuando comience el período epidémico.

Después de una vacunación de virus inactivados, las infecciones clínicas se reducen en un 70 y 90 % en los niños y adultos jóvenes, reduciendo considerablemente las consultas médicas, pero solamente entre un 30 y 40 % en las personas de edad avanzada, aunque la vacunación evita la presencia de cuadros graves y la muerte en más o menos un 70 %, disminuyendo también el número de hospitalizaciones.

Las vacunas elaboradas en la actualidad, pueden reducir las severas consecuencias de las epidemias de influenza, si se administran anualmente a una proporción significativa de los individuos en situación de alto riesgo.

Está siendo estudiado por muchos fabricantes de vacunas contra la influenza, el empleo de adyuvantes para aumentar la inmunogenicidad de la vacuna inactivada, medida actual más importante para la reducción de la morbilidad y mortalidad relacionadas con los virus de la influenza.

RESUMEN

Los virus de la influenza pertenecen a la familia de los *Orthomyxovirus*. Son los agentes causales de la enfermedad conocida por el mismo nombre, influenza o gripe. Esta enfermedad es la más común de todas, con la más alta morbilidad y una elevada mortalidad. La causa de esto se encuentra en la facilidad de su contagio, diversidad del agente causal y sus continuos cambios genómicos y antigénicos, frente a los cuales el hombre pierde continuamente la inmunidad. Ataca a humanos, mamíferos y aves.

La referencia más antigua de la enfermedad data del 412 a.n.e. En el siglo xx se reportaron cuatro grandes pandemias, causantes de millones de fallecidos en breves períodos.

Atendiendo a su estructura genómica se clasifican en los tipos A, B y C. El tipo A se clasifica en tres subtipos. El tipo A tiene la más alta tasa de cambios.

Son virus RNA. Los tipos A y B tienen estructuras similares, no así los del tipo C. Con un tamaño entre 80 a 120 nm de diámetro y pleomórficos. De simetría helicoidal, se cubren de una membrana lipídica, en ella se insertan las glicoproteínas HA y NA que determinan el alto grado de variabilidad del virus. Se han identificado 15 subtipos de proteínas HA y 9 NA. También aparece en la envoltura la proteína M2.

El virus varía mediante cambios genómicos menores (*drift*, de carácter acumulativo) y mayores (*shift*), siendo estos últimos verdaderos saltos, que han dado lugar a los subtipos del tipo A.

Existen tres teorías sobre los mecanismos de cambios para el surgimiento de cepas pandémicas: las que se producen por reordenamiento entre cepas humanas y aviares, otra que lo explica por transferencia directa entre ellas y la tercera que lo explica por la reemergencia de cepas humanas que han estado en reservorios desconocidos durante muchos años.

Para la detección del antígeno viral se emplean técnicas de diagnóstico rápido, (inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa, entre otras) y basadas en técnicas moleculares, la reacción en cadena de la polimerasa (RCP). Los aislamientos se realizan en huevos o cultivo de tejido. La caracterización se realiza mediante la técnica de inhibición de la hemaglutinación utilizando sueros hiperinmunes. En investigaciones de mayor precisión sobre los cambios ocurridos en las diferentes cepas se realiza el análisis de la secuencia genómica del virus.

Para la profilaxis se emplean antivirales y vacunaciones anuales que se ajustan todos los años a las cepas circulantes. La OMS recomienda hoy vacunas trivalentes inactivadas que incluyen los tipos A (H1N1), A (H3N2) y tipo B.

Atendiendo a la importancia del virus para la salud humana, y por los daños que provoca en la sociedad y la economía, la OMS organiza internacionalmente su vigilancia y, en Cuba, existe un programa integral para su atención y control.

BIBLIOGRAFÍAS

- Benguigui Y. La situación del control de las infecciones respiratorias en América Latina. Noticias sobre IRA, 1994; 27: 4-5.
- Crave RD, Sorelle K, Godh R. Myocarditis with influenza B infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1997; 16: 629-30.
- Dirección Nacional de Estadísticas. Número de casos totales de IRA registrados anualmente desde 1991-1997. Cuba: MINSAP, 1996.
- Francis T. On the doctrine of original antigenic. *Sin Proc Amer Philisoph Soc* 1960; 104: 572-5.
- Frank AL, Taber LH, Wells CR, Wells JM, Glezen WP. Comparison of infections rates and severity of illness for influenza A virus subtypes H₁N₁ and H₃N₂. *J. Infect Dis.* 1985; 151: 73-80.
- Glezey W. Emerging infections: pandemic influenza. *Epidemiol. Rev.* 1996;18 (1): 64-76.
- Gregg MB. The epidemiology of influenza in humans. *Ann NY Acad Sci* 1980; 353: 45-53.
- Grambas S, Bennet MS, Hay AJ. Influence of amantadine resistance mutations on the pH regulatory functions of the M2 protein of influenza. *A viruses. Virology* 1992; 191: 541-9.
- Hayden FG, Treanor RS, Lobo M, Betts RF, Miller M, Kinnersley N, Mills RG, Ward P, Straus SE. Use of the Oral Neuraminidase Inhibitor Oseltamivir in Experimental Human Influenza. *JAMA* 1999; 282: 1240-6.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Manual de microbiología médica. 14ª. Ed. México: El manual moderno, 1996: 555-67.
- McQuillian J, Madeley CR. Monoclonal antibodies for rapid diagnosis of influenza A and B virus infections by immunofluorescence. *Lancet* 1985: 911-4.
- Monto A, Maassab M, Bryan E. Relative efficacy of embrionated eggs and cell culture for isolation of contemporary Influenza viruses. *J Clin Microbiol* 1981; 13: 233-5.
- MINSAP. Programa Integral de Atención y Control de las Infecciones Respiratorias Agudas. Cuba: MINSAP, 2000.
- Murphy B, Robert G. Orthomixoviruses: Influenza. *In* Fields BN, Knipe DM, Howley P. *Fields Virology*. vol 1. New York: Lippincott-Raven, 1996.
- Neiryck S, Deroo T, Saelens X, Vanlandschoot P, MinJou W and Fiers W. A universal influenza A vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. *Nat Med* 1999; 5(10): 1157-63.
- Obrosova NP, Burtseva EL, Nevaki IM, Karmanova RI, Nazarov VI, Pitkenen AA. The protective action of arbidol during a rise in respiratory diseases in 1990. *Vopr Virusol* 1991; 36(5): 380-1.
- Oropesa Fernández SI, Morier Díaz L, Vazquez S, Goyenechea A, Valdivia A, Hernández B, García S. Caracterización de los virus de influenza por el método de la inmunoperoxidasa utilizando anticuerpos monoclonales. *Montaje y Validación. Rev. Cub. Med. Trop.* 1996; 48(3): 149-54.
- Paleche A, Beyer W, Luchters G, Volker R, Sprenger M, Maswel N. Influenza Vaccines: The effect of vaccine dose on antibody response in primed populations during the engoing interpandemic period, a review of the literature. *Vaccine* 1993; 11(9): 892-908.
- Piedra PA. Influenza virus pneumonia: Pathogenesis, treatment and prevention. *Semin. Respir. Infect.* 1995; 10: 216-23.
- Pumarola A, Rodríguez A, García J, Piedrola G. Microbiología y parasitología médica: Orthomixovirus, morfología, estructura y función. 2da. ed. España: Masson-Salvat Medicina, 1994.
- Pumarola A. Historias de las pandemias de gripe. *PHATOS* 1981; 11(22): 15-28.
- Shorridge KF. Pandemic Influenza: A zoonosis? *Semin Repir Infect* 1992;7(1):11-25.
- Swenson PD. Hemagglutination inhibition test for the identification of influenza viruses. *In*: Iseberg HD, editor. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washinton, DC: ASM, 1992: 8-11.
- Toledo H, Padilla O, Vidal J. Mortalidad por enfermedades infecciosas. Cuba 1987-1993. *Bol Epidemiol IPK* 1995, 25(5): 200-3.
- Weis W, Brown JH, Cusack S, Paulson JC, Skehel JJ, Wiley DC. Structure of influenza virus hemagglutinin complexed with its receptor, Sialic acid. *Nature*.1998; 333: 426-31.
- Weissenbasher C, Ávila W. Los virus como causa de IRA alta y baja en niños: características generales y diagnóstico. *En*: Benguigui Y, Antuñaño F, Schmunis G, Yunes J, eds. *Infecciones respiratorias en niños*. EE.UU. OPS/OMS, 1997.
- Wiley D, Wilson Y, Skehel J. Structural identification of the antibody binding sites of Hong Kong Influenza hemagglutinin and their involvement in antigenic variation. *Nature* 1990; 289: 373-8.
- World Health Organization. A revision of the system of nomenclature for influenza viruses. *Bull WHO* 1981; (58): 585-91.
- Zhany W and Evans DH. Detection and identification of human viruses by the polimerase chain reaction. *J Virol Meth* 1991; 33: 165-89.
- Zinkermagel R. Some general aspects of immunity o viruses. *Vaccine* 1994; 12(16): 1493-4.



Paramixovirus y rubéola

**María A. Ribas Antúnez
Odalys Valdés Ramírez
Ángel Valdivia Romero**

INTRODUCCIÓN

Los *paramixovirus* son los agentes más importantes de las infecciones respiratorias en lactantes y niños pequeños (Virus sincitial respiratorio y parainfluenzavirus) y también, los agentes causantes de dos de las enfermedades contagiosas más comunes de la infancia (parotiditis y sarampión). Todos los virus de esta familia son virus envueltos, con ARN de cadena negativa, no segmentados.

Estos virus inician su infección a través del tracto respiratorio. Los patógenos respiratorios se limitan a reproducirse en el epitelio respiratorio, en tanto que los virus del sarampión y la parotiditis se diseminan por todo el cuerpo y producen enfermedad generalizada.

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

La morfología de los *Paramixoviridae* recuerda la del virus de la influenza, pero son de mayor tamaño y mucho más pleomórficos. A continuación se mencionan las propiedades más importantes de esta familia.

Virión: esférico, pleomórfico, 150 a 300 nm de diámetro (nucleocápside helicoidal, 18 nm).

Composición: ARN (1 %), proteínas (73 %), lípidos (2 0%), carbohidratos (6 %).

Genoma: ARN de cadena simple, lineal, no segmentado, en sentido negativo, 16 a 20 kb.

Proteínas: seis proteínas estructurales.

Envoltura: contiene la glicoproteína viral hemaglutinina (HN) (algunas veces posee actividad de neuroaminidasa) y glicoproteína de fusión (F).

Replicación: ocurre en el citoplasma, por gemación de partículas en la membrana plasmática.

Características notables: antigénicamente estable, partículas lábiles, pero muy infectantes.

Su genoma viral es lineal, con ARN de cadena única negativa, no segmentado, contiene seis o más genes, cada uno de los cuáles codifica una proteína.

Seis proteínas estructurales de esta familia son análogas a las del virus de la influenza. Tres de ellas forman un complejo con el ARN viral, la nucleoproteína (NP) que forma la nucleocápside helicoidal y representa la principal proteína interna y dos proteínas grandes

(designadas P y L) las cuales probablemente tienen actividad de polimerasa viral, participan en la transcripción y replicación del ARN. Tres proteínas participan en la formación de la envoltura viral: una proteína matriz (M) que tiene afinidad por la NP y las glicoproteínas de la superficie viral, todas son importantes en el ensamblaje del virión.

La nucleocápside se rodea de una envoltura lipídica con espículas formadas por dos glicoproteínas diferentes. La actividad de estas glicoproteínas de superficie ayuda a distinguir el género de la familia *Paramixoviridae*. La glicoproteína mayor (HN o H) puede mostrar actividad de hemaglutinina o neuroaminidasa, media la unión entre el virus y el receptor de la célula huésped. La otra glicoproteína (F) media la fusión de la membrana y muestra actividad de hemolisina.

CLASIFICACIÓN

La familia *Paramixoviridae* se divide en dos subfamilias: La subfamilia *Paramixovirinae* integrada por tres géneros, los *Paramixovirus*, *Rubulavirus* y *Morbilivirus* y la subfamilia *Pneumovirinae* que tiene un solo género nombrado *Pneumovirus*.

Los criterios para su clasificación se basaron en características morfológicas, organización del genoma, actividad biológica de las proteínas y en las secuencias de las proteínas relacionadas.

El género *Paramixovirus* incluye el virus parainfluenza humano tipo 1 y tipo 3, el virus Sendai (parainfluenza tipo 1 de los ratones) y el parainfluenza tipo 3 bovino. El género *Rubulavirus* contiene el virus de la parotiditis humano, el virus de la parainfluenza humano tipo 2, 4a y 4b y el virus parainfluenza.

Los miembros de un género comparten determinantes antigénicos comunes. Aunque los virus pueden distinguirse antigénicamente mediante reactivos bien definidos, la hiperinmunización estimula anticuerpos de reactividad cruzada, los cuales reaccionan con los cuatro virus de la parainfluenza y el virus de la parotiditis. Todos los miembros de estos dos géneros poseen actividad hemaglutinantes y de neuroaminidasa, ambas efectuadas por la glicoproteína HN, y también propiedades de fusión a membrana y hemolisina, que son funciones de la proteína F.

El género *Morbilivirus* incluye el virus del sarampión humano, el virus del moquillo canino, el virus de la fiebre epizootica de los bovinos, el morbilivirus acuático que infectan mamíferos marinos. Estos virus se vinculan antigénicamente, pero no muestran reacción cruzada con miembros de los otros géneros. La proteína F parece estar muy conservada entre los morbilivirus, en tanto que la proteína H muestra mayor variabilidad. El virus del sarampión posee una hemaglutinina (solo aglutina eritrocitos de mono), pero carece de actividad de neuroaminidasa.

El género *Pneumovirus* lo integra el virus sincitial respiratorio humano, el virus sincitial respiratorio bovino y el virus de la neumonía del ratón. Inmunológicamente no se vinculan con agentes de los otros géneros, su nucleocápside es más pequeña. La glicoproteína de superficie más grande carece de las actividades hemaglutinantes y neuroaminidasa, por lo que se denominó proteína G. La proteína F del virus sincitial respiratorio presenta actividad de fusión a membranas, pero carece de actividad de hemolisina.

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS PROTEÍNAS VIRALES

Nucleoproteína (NP). Las NPs oscilan entre 489 y 553 aminoácidos (aa). La comparación de las secuencias de las proteínas y datos obtenidos por digestión con proteasas sugirieron que la NP contiene dos dominios. El 80 % de la región amino terminal (N-terminal) de la proteína es bastante conservada entre los virus relacionados, mientras que el 20 % de la región carboxilo terminal (C-terminal) es pobremente conservado.

La NP tiene varias funciones en la replicación viral, interviene en la encapsidación del ARN genómico, se asocia con la P-L polimerasa durante la transcripción y la replicación, y es muy probable que interactúe con la proteína M durante el ensamblaje del virus.

Fosfoproteína (P). El nombre de la proteína P se debe a que está altamente fosforilada. Dentro de los virus de la familia, esta proteína es muy variable en su longitud y está compuesta por dos dominios el N-terminal y el C-terminal, separados por una región hipervariable.

La proteína P desempeña una función fundamental en la síntesis de ARN, junto con la proteína L forman la polimerasa viral (P-L) y junto con la NP forman un complejo que posiblemente active la encapsidación del ARN.

Proteína L. La proteína L de los paramixovirus tiene una longitud muy similar (aproximadamente 2 200 aa). Esta proteína es la menos abundante de las proteínas estructurales, por su tamaño, longitud y su localización activa en la transcripción viral, se sugiere que podría ser la polimerasa viral. Las proteínas P y L forman un complejo que es requerido para la actividad polimerasa con la NP y la cadena de ARN molde.

Proteína Matrix (M). La proteína M es la más abundante en el virión, tiene de 341 a 375 aa, es una proteína básica y algo hidrofóbica. La asociación entre ellas y su contacto con la nucleocápside puede ayudar en la formación de la partícula viral.

Glicoproteínas de la envoltura. Los paramixovirus poseen dos proteínas integral de membrana, una de ellas está involucrada en la unión del virus a la célula y la otra media la fusión de la envoltura viral con la membrana celular.

Para los parainfluenzavirus y rubulavirus la glicoproteína de superficie se denomina HN, es una proteína multifuncional, es el mayor determinante antigénico. Esta proteína es la responsable de la adsorción del virus al ácido siálico contenido en la membrana celular. Tiene actividad hemaglutinante y neuroaminidasa.

La HN contiene de 565 a 582 aa, es una proteína integral de membrana de tipo II. Esta proteína contiene un dominio hidrofóbico localizado en el N-terminal que actúa como señal de anclaje a la membrana.

La proteína de unión de los morbilivirus (H) tiene actividad hemaglutinante y carece de actividad neuroaminidasa, es también una proteína integral de membrana de tipo II.

La glicoproteína (G) de los pneumovirus tiene cierta homología estructural con la proteína de unión de los paramixovirus, pero también presenta grandes diferencias. La proteína G no tiene actividad hemaglutinante ni neuroaminidasa y se desconoce el receptor en la superficie celular. Es una proteína integral de membrana de tipo II, de 298 aa, con un dominio N-terminal hidrofóbico que contiene la señal de anclaje. Esta proteína se encuentra en las células infectadas unida a la membrana y, en su forma, soluble.

Proteína de fusión (F). La proteína F es un factor crítico en la infección y la patogenia de los *Paramixoviridae*. Induce la fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática de la célula huésped. También se encarga de la fusión entre células, la cual permite la propagación directa del virus. Este último fenómeno induce la formación de grandes sincitios (células gigantes). Es una proteína integral de membrana de tipo II, que se sintetiza como un precursor inactivo Fo. Para adquirir actividad biológica el precursor debe escindirse por acción de una proteasa extracelular para generar dos subunidades F₁ y F₂ las cuales permanecen unidas por puente disulfuro.

Proteínas no estructurales de los Pneumovirus (NS1 y NS2). Los Pneumovirus contienen 2 genes NS1 y NS2 que codifican proteínas de 139 y 124 aa respectivamente, se expresan abundantemente en las células infectadas. Se conoce muy poco acerca de estas proteínas en el ciclo viral.

REPLICACIÓN

La replicación de la familia de los *Paramixoviridae* tiene lugar en el citoplasma y consta de varias etapas.

Adhesión, penetración y pérdida de la cubierta del virus.

Los *Paramixovirinae* se adhieren a las células huésped a través de la HN o H. En los paramixovirus y rubulavirus los receptores celulares son moléculas de ácido siálico. Para los morbilivirus el receptor es una proteína denominada CD₄₆. En los pneumovirus se desconoce este receptor y la proteína G es la proteína que interviene en la unión del virus a la célula. A continuación, la envoltura del virión se fusiona con la membrana celular gracias a la acción de F₁. La fusión tiene lugar a pH neutro lo que permite la liberación de la nucleocápside viral directamente en el interior de la célula.

TRANSCRIPCIÓN, TRADUCCIÓN Y REPLICACIÓN DEL ARN

La familia *Paramixoviridae* contiene un genoma de ARN de sentido negativo no segmentado. El complejo P-L polimerasa elabora múltiples transcritos de ARN mensajero (ARNm) en el citoplasma de la célula. No se requiere iniciadores exógenos y, por tanto, no depende de las funciones del núcleo celular. Los ARNm son mucho más pequeños que las dimensiones del genoma: cada uno representa un solo gen. La secuencia reguladora de la transcripción en los límites del gen señala el inicio y la terminación de la transcripción. El gen NP es el transcrito más abundante en una célula infectada y el gen L es el menos abundante.

Las proteínas virales se sintetizan en el citoplasma y las glicoproteínas virales se sintetizan y glicosilan en las vías secretoras.

El complejo P-L polimerasa también se encarga de la replicación del genoma viral. Para lograr la síntesis de una cadena positiva antígenoma, este complejo debe ignorar las señales de terminación interpuesta en los límites del gen. A partir del antígenoma se copian genomas progenie de longitud completa.

MADURACIÓN

El virus madura por gemación en la superficie celular. Las nucleocápsides hijas se forman en el citoplasma y migran a la superficie de la célula. Son atraídas a sitios sobre la membrana tachonados con espículas de glicoproteínas virales.

La proteína M es esencial para la formación de las partículas, probablemente sirve para enlazar la envoltura del virus a la nucleocápside. Durante la gemación la mayor parte de las proteínas del huésped son excluidas de la membrana.

La proteína F activada produce la fusión de las membranas celulares adyacentes y como resultado se forma un sincitio extenso. La formación de sincitios es una respuesta común a la infección por paramixovirus.

VIRUS PARAINFLUENZA (VPI)

Los VPI son causa de enfermedades respiratorias comunes en personas de todas las edades y en pacientes inmunodeprimidos. Pueden ser patógenos principales de enfermedad grave del aparato respiratorio en lactantes y niños pequeños; sólo el virus sincitial respiratorio es causa de mayor número de casos de enfermedad respiratoria grave en niños.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

Este virus se transmite por contacto directo de una persona a otra o por aerosol de gotas grandes. Al parecer sólo se reproducen en el epitelio respiratorio. La viremia, si ocurre, es poco común. La infección puede afectar solo la nariz y dar como resultado un síndrome inofensivo de "catarro común". La infección puede ser más extensa y, en especial con los tipos 1 y 2, afectar la laringe y la porción superior de la tráquea para provocar crup (laringo-tráqueo-bronquitis). A veces la infección se propaga más profundamente a la parte inferior de la tráquea y en los bronquios para culminar en neumonía o bronquiolitis (o ambas), sobre todo con el tipo 3. Más de la mitad de las infecciones iniciales con virus de los parainfluenza tipos 1 a 3 produce enfermedad febril.

Las infecciones primarias tienden a ser las más graves y, en general, se presentan en los primeros 5 años de vida. Es común la reinfección, pero habitualmente sólo produce infección leve no febril en las vías respiratorias superiores. Los anticuerpos de infecciones previas no confieren protección absoluta contra la reinfección, pero modifican el curso de la enfermedad subsecuente.

Se desconoce la duración del período de incubación en pacientes pediátricos, pero en voluntarios adultos varía de 2 a 6 días. La propagación del virus persiste casi una semana, aunque en ocasiones se observa durante periodos más prolongados.

DATOS CLÍNICOS

En niños pequeños la infección primaria, generalmente, provoca rinitis, faringitis, bronquitis, usualmente acompañadas de fiebre. Sin embargo, los niños con infección primaria por VPI de los tipos 1, 2 o 3 pueden presentar enfermedad grave, la cual varía desde laringotraqueítis y crup (en particular con los tipos 1 y 2) hasta bronquiolitis y neumonía (sobre todo con el tipo 3). En lactantes menores de seis meses se presenta enfermedad grave vinculada principalmente con el tipo 3; el crup es más probable en niños de mayor edad. El VPI tipo 4 no es causa de enfermedad grave, incluso en la primera infección.

INMUNIDAD

Generalmente, todos los lactantes presentan anticuerpos (Acs) maternos contra el VPI en el suero, pero estos no evitan la infección o la enfermedad. En niños mayores o en adultos puede ocurrir una reinfección, incluso, en presencia de Acs neutralizantes adquiridos de infecciones anteriores. Estos Acs modifican la gravedad de la enfermedad, puesto que dichas enfermedades se presentan como infecciones respiratorias no febriles (resfriado).

La infección natural estimula la aparición de Acs IgA en las secreciones nasales. Los Ac IgA secretados son más importantes para suministrar protección contra la reinfección, pero tienden a desaparecer después de algunos meses. Las reinfecciones son comunes incluso en los adultos.

El diagnóstico serológico de las infecciones por los VPI se dificulta debido a que este comparte determinantes antigénicos con otros paramixovirus.

Hasta el momento se desconoce la importancia de los Acs séricos a las proteínas HN y F para determinar la resistencia. Posiblemente sean más importantes los Acs F, ya que neutralizan la infectividad del virus y evitan la propagación de una célula a otra por fusión celular; los Acs HN solo neutralizan la infectividad.

En los lactantes la producción de Acs IgA no neutraliza por completo el virus, por lo que ocurre una respuesta deficiente de Acs contra la proteína F; esto podría explicar las frecuentes reinfecciones que tienen lugar durante los primeros años de vida.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

La respuesta inmune ante la primera infección del VPI es de tipo específica, ante reinfecciones la respuesta se hace cada vez más amplia y las reacciones cruzadas se extienden incluso al virus de la parotiditis.

El diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento del virus en las muestras apropiadas, teniendo en cuenta la calidad de la muestra clínica, su cuidado y manipulación.

Aislamiento en cultivo celular

Las muestras clínicas adecuadas en el aislamiento viral son los frotis faríngeos y nasales y el lavado nasal. Es importante inocular rápidamente las muestras en cultivo celular, debido a que la infectividad del virus decae con rapidez, si estas se almacenan. Se han utilizado varias líneas celulares para su aislamiento, las más utilizadas son LLC-MK₂ (línea continua de células de riñón de mono) y la NCI-H292 (línea derivada de carcinoma mucoepidermoide pulmonar humano). Estos virus crecen lentamente y producen muy poco efecto citopático. La presencia del virus se detecta mediante hemadsorción con eritrocitos de cobayo. Pueden requerirse 10 días o más de incubación antes que los cultivos sean positivos, lo cual depende de la cantidad de virus.

La tipificación se realiza mediante inmunofluorescencia (IF), inhibición de la hemadsorción en monocapas infectadas o por inhibición de la hemaglutinación con virus del medio de cultivo celular.

Detección de antígenos

La detección de antígenos se realiza directamente en las muestras clínicas (células epiteliales), utilizando la IF o el ELISA los que constituyen métodos rápidos, de bajo costo y que permiten procesar un elevado número de muestras, pero son menos sensibles que el aislamiento viral. El uso del *shell vials* incrementa la sensibilidad de estos métodos y permite el diagnóstico más temprano que los cultivos celulares comúnmente utilizados.

Detección de ácidos nucleicos

La detección de ácidos nucleicos por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR del inglés *Polimerase Chain Reaction*) ha sido aplicada por muchos investigadores para el diagnóstico de numerosas enfermedades infecciosas y tiene la capacidad de producir a partir de una molécula de ácido nucleico, hasta 1000 000 de copias con alta sensibilidad y especificidad.

En los últimos años se ha comenzado a aplicar la PCR de los VPI con buenos resultados. Este método permite detectar el genoma del VPI directamente en las secreciones respiratorias por lo cual constituye un método alternativo. Esta técnica tiene las desventajas de ser un método complejo y costoso cuando se compara con la detección de antígeno, pero presenta mayor sensibilidad.

Serología

Para el diagnóstico serológico se utiliza el suero en la fase aguda o convaleciente. Las muestras deben ser colectadas en un intervalo de 2 a 3 semanas. El incremento de Acs o la aparición de Acs IgM se requiere para la confirmación serológica de la infección.

EPIDEMIOLOGÍA

Los VPI ocupan el segundo lugar, después del VSR, como causa de infección respiratoria baja en niños pequeños. Este virus se distribuye ampliamente en todas las regiones geográficas, siendo el de tipo 3 el que predomina. Se estima que la mitad de los niños se infecta durante el primer año de vida.

El tipo 3 es epidémico, con cierto incremento durante la primavera, mientras que los tipos 1 y 2 tienden a causar epidemias durante el otoño o el invierno, frecuentemente con un ciclo bianual.

Los tipos 1 y 2 causan crup en lactantes. El tipo 3 es causa frecuente de neumonía y bronquiolitis en lactantes menores de seis meses de edad. Las reinfecciones son comunes en niños y adultos provocando infecciones leves de las vías respiratorias altas.

Estos virus habitualmente se introducen en niños en edad preescolar y luego se propagan con rapidez de una persona a otra. El virus tipo 3, en especial, infecta a todas las personas susceptibles en una población semicerrada como una familia, círculo infantil o salas pediátricas de los hospitales, en un tiempo breve.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

El antiviral ribabirina parece ser beneficioso, suministrado mediante aerosol de partículas pequeñas.

Se ha observado que vacunas inactivas inducen Acs en suero, pero no protegen contra la infección. Estas vacunas inducen pobre inmunidad local, y en el caso de la resistencia a los VPI tiene mayor importancia la IgM secretora.

VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO HUMANO (VSRH)

El VSRH es el patógeno más importante de infecciones graves de las vías respiratorias bajas en lactantes y niños pequeños. Actualmente este virus se ubica como causa funda-

mental de bronquiolitis y de una parte importante de las neumonías. Además, es capaz de causar enfermedad en adultos inmunodeprimidos y ancianos

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

El VSR es altamente contagioso y se transmite a través del contacto con secreciones respiratorias, principalmente con las manos y/o la superficie de trabajo y la subsiguiente inoculación de la mucosa nasal o conjuntiva.

La infección inicial resulta de la multiplicación del virus en células epiteliales de las vías respiratorias altas (nasofaringe), por regla general, termina en esta fase en adultos y niños mayores. En la mitad aproximadamente de los niños infectados de menos de 8 meses de edad, el virus se propaga a las vías respiratorias inferiores: bronquios, bronquiolos, e incluso parénquima pulmonar, probablemente arrastrado por las secreciones. Aunque puede propagarse de una célula a la siguiente, no es probable que este sea el modo principal de diseminación *in vivo*. No se ha identificado viremia. Durante la bronquiolitis hay necrosis con destrucción de las células epiteliales ciliadas, ocasionalmente, proliferación del epitelio bronquiolar. Aparece un infiltrado peribronquiolar de linfocitos, células plasmática y macrófagos, con edema de las paredes bronquiales y tejidos circundantes, que sumado al aumento de la secreción de moco, produce la obstrucción de bronquiolos. En los casos de neumonía se demuestra una infiltración intersticial de mononucleares, acompañada a veces por áreas de edema y necrosis.

La diseminación del virus al aparato respiratorio inferior, con la producción concomitante de enfermedades más graves, se debe probablemente, o por lo menos en parte, a la ausencia de anticuerpos Acs IgA en las secreciones respiratorias y al lento desarrollo de los Acs en el niño previamente no infectado. Al parecer, un sistema inmunitario intacto tiene importancia para eliminar la infección, ya que pacientes con defecto en la inmunidad mediada por células, quedan infectados de manera persistente por el VSR y excretan virus durante meses. Esto ha sido observado en niños con inmunodeficiencia congénita y en niños tratados con drogas inmunosupresoras. Se ha observado diseminación a larga distancia a partir del epitelio respiratorio (riñón, hígado, miocardio), en varias infecciones mortales en individuos que carecían de inmunidad celular. Por otro lado, el empleo de vacunas preparadas con partículas virales inactivadas no han brindado protección. Además, se produce el hecho paradójico de que títulos no protectores de anticuerpos séricos adquiridos por vía transplacentaria o por vacunas de virus inactivado pueden aumentar la gravedad clínica de la infección. Todos estos datos sugieren que la bronquiolitis pueda tener una patogénesis inmunológica.

Últimamente se ha dado importancia como posible mecanismo patogénico a la liberación de mediadores farmacológicos del broncoespasmo estimulados por complejos inmunes. Se ha observado que niños con reacciones graves a VSR, tienen en sus secreciones nasales histamina y metabolitos de ácido araquidónico. La degranulación de las células cebadas se produciría por efecto del virus actuando por distintos mecanismos posibles, como pueden ser interacción del virus con Ac IgE específico o con IgE inespecífica presente en la superficie de células cebadas, o bien por desestabilización de la membrana del mastocito, produciendo cambios en su permeabilidad, o por activación del complemento.

DATOS CLÍNICOS

El espectro de trastornos respiratorios provocados por el VSR va desde un resfriado común en adultos, hasta cuadros de bronquitis febril en lactantes y niños mayores, y neumonía en lactantes.

El período de incubación entre la exposición y el inicio de la enfermedad, es de 4 o 5 días. La excreción viral puede persistir de 1 a 3 semanas.

Entre un 25 y un 40 % de las infecciones primarias por el VSR, hay afección de las vías respiratorias inferiores, caracterizada por una fase prodrómica de rinorrea acompañada a veces por disminución del apetito. La tos y la ronquera pueden aparecer simultáneamente, pero ocurren con más frecuencia después de un intervalo de 1 a 3 días. Después que aparece

la tos, si la enfermedad es benigna los síntomas no progresan más allá de este estado. En casos severos la tos progresa y aparece disnea, la hiperexpansión del pecho es evidente y puede ocurrir retracción intercostal y subcostal. El avance de los síntomas puede ser muy rápido, culminando con la muerte. Sin embargo, con la disponibilidad del cuidado intensivo pediátrico moderno, la mortalidad en lactantes normales es baja (alrededor de 1 % en pacientes hospitalizados, pero si una infección por VSR se superpone a un trastorno preexistente, como una cardiopatía congénita, la mortalidad puede ser tan elevada como un 37 %).

El papel que desempeña la infección por VSR en el síndrome de muerte súbita de lactantes no se ha esclarecido, sin embargo, se ha detectado el virus en los pulmones de niños que mueren de manera repentina e inexplicable. Es probable que un subconjunto de estas muertes súbitas pueda atribuirse al VSR.

Este virus es un agente etiológico importante de otitis media, ya que alrededor del 37 % de los niños afectados padece de infección del oído medio.

La reinfección es común tanto en niños como en adultos y, aunque tiende a mostrar síntomas, estos son menos severos, limitándose, por lo general, a las vías respiratorias superiores, simulando un resfriado, lo cual debe estar relacionado al efecto protector de los mecanismos inmunes. El VSR puede causar neumonía grave en ancianos.

INMUNIDAD

Existen numerosas evidencias de que el sistema inmunológico está implicado en la recuperación de la enfermedad y en la protección frente a la infección por VSR.

Estudios de inducción de linfocitos "T" citotóxicos (CTL) por inmunización de animales con virus de vaccinia recombinante (VVR), que expresan diferentes componentes de VSR y de eliminación alternativa de las subpoblaciones celulares usando anticuerpos monoclonales (AcM) específicos, muestran que las proteínas virales N, F y, especialmente, M₂ son dianas para CTL restringidos por el complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I. La proteína M₂ induce una resistencia pasajera a la infección, pero desempeña una importante función en la recuperación de la enfermedad mediada, principalmente, por CTL activados (CD8 + T).

La respuesta inmune humoral desempeña un papel protector frente a la infección por VSR produciendo anticuerpos séricos y secretores contra el virus. Estudios de transferencia pasiva de anticuerpos en animales indican que altos títulos de estos en sueros protegen el tracto respiratorio bajo, mientras que los niveles de anticuerpos producidos por mucosas secretoras protegen el tracto respiratorio alto.

Las glicoproteínas de superficie F y G del VSR son los principales antígenos virales capaces de inducir una respuesta inmune protectora. En animales de experimentación, la transferencia pasiva de anticuerpos monoclonales anti F y anti G confieren resistencia a la infección por VSR, así como su inmunización con las proteínas purificadas o con virus vaccinia recombinante (VVR) que las expresan. Sin embargo, los anticuerpos contra ambas proteínas tienen un comportamiento muy diferente en ensayos de neutralización *in vitro*; la mayoría de los anticuerpos monoclonales anti F tiene capacidad para neutralizar el virus, mientras que solo unos pocos anti G la tienen.

La proteína N expresada por VVR confiere protección de corta duración frente a la infección por VSR, pero AcMs anti N no neutraliza el virus *in vitro*, protege cuando es suministrada pasivamente.

En humanos la respuesta inmune confiere una respuesta solo parcialmente efectiva frente a la infección por VSR. Esto puede ser debido a propiedades del virus, como es su diversidad antigénica en los subgrupos A y B o a las características de la respuesta frente a la infección en individuos de corta edad, bien sea por inmadurez de su sistema inmunológico o por supresión debido a los anticuerpos adquiridos maternalmente.

Estudios epidemiológicos indican que en niños muy pequeños la respuesta de anticuerpos neutralizantes es el 15 y 25 % de la concebida en adultos después de una infección por VSR. La edad parece afectar, principalmente, la respuesta frente a la proteína F, mientras que los niveles de anticuerpos de origen materno parecen suprimir la respuesta frente a la proteína G. Además, la duración de la respuesta a la primera infección por VSR es de corta duración, aunque dicha respuesta parece durar más tiempo después de la segunda y tercera infección.

DIAGNÓSTICO

Un diagnóstico presuntivo de la infección por VSR en niños debe estar basado en los síntomas clínicos teniendo en cuenta la edad y otros factores epidemiológicos, pero el diagnóstico definitivo depende del laboratorio. Otro aspecto importante a tener en cuenta son las muestras a tomar y han sido descritos como los más útiles los exudados y aspirados nasofaríngeos para lograr el aislamiento de esta entidad. La infectividad del VSR en las secreciones de pacientes aquejados por esta patología es muy baja, ya que el virus es termolábil. Para lograr el aislamiento del virus las muestras deben ser inoculadas en los cultivos celulares de inmediato. Otro factor importante es la temperatura. Se dice que un proceso de congelación y descongelación de la muestra puede causar desde la pérdida de más de un 90 % de la infectividad, hasta la pérdida total de la misma, reduciendo así en extremo la probabilidad del aislamiento, por lo que debe ser transportada a una temperatura de 4 °C.

En general, el diagnóstico de esta entidad pudiera dividirse en 2 aspectos fundamentales: detección del virus o de sus componentes y los métodos serológicos.

DetECCIÓN DEL VIRUS O DE SUS COMPONENTES

Aislamiento e identificación en cultivos celulares. El aislamiento en cultivo continúa siendo el método diagnóstico de referencia, si bien presenta el inconveniente de su lentitud, ya que generalmente se requieren de 3 a 10 días para aislar e identificar el virus.

Las líneas celulares heteroploides humanas (HEp-2 o HELA) son las más sensibles para aislar el virus. Estas células pueden perder su sensibilidad al VSR, de modo que es importante que cada línea celular se verifique con regularidad para asegurarse que retiene dicha sensibilidad.

En general, la presencia del virus puede reconocerse por la formación de células gigantes multinucleadas y sincitios en los cultivos inoculados. Se requieren hasta 10 días para que aparezca el efecto citopático. El diagnóstico definitivo se establece por identificación del antígeno viral en células infectadas, mediante un antisuero específico al aplicar la prueba de inmunofluorescencia. La identificación directa de los antígenos virales en las muestras obtenidas del paciente es rápida y sensible. Puede utilizarse la IF en las células exfoliadas, o ELISA en las secreciones nasofaríngeas como diagnóstico temprano de la infección.

DETERMINACIÓN DE ANTÍGENOS PRECOSES FLORESCENTES (DAPF)

Este método descrito inicialmente para la detección rápida de citomegalovirus en muestras de orina, fue extendido a otros virus y entre ellos al VSR, donde constituye un método rápido y confirmatorio, aportando un diagnóstico preciso en 48 h gracias a la amplificación que se produce por centrifugación del cultivo después de inoculado. La precisión del mismo la aporta la utilización de un anticuerpo monoclonal dirigido a los epítopes importantes del virus.

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

Esta tecnología ha sido empleada para el diagnóstico del VSR directamente a partir de muestras clínicas. Esta técnica permite detectar cantidades mínimas de virus en muestras no útiles para el aislamiento viral en un corto período. Esta metodología se ha empleado en los últimos años en estudios de epidemiología molecular. Utilizando diferentes juegos de oligos para amplificar fragmentos de los genes N, F, G y SH seguidos de un análisis de restricción se ha podido determinar el subgrupo y los diferentes genotipos que circulan en el mundo.

DETECCIÓN DE ANTÍGENO DEL VSR MEDIANTE SISTEMAS INMUNOENZIMÁTICOS

La introducción de un conjunto de inmunoensayos con diferente especificidad y sensibilidad, permite el procesamiento rápido de un gran número de muestras por unidad de

tiempo. En este sentido se han diseñado varios procedimientos basados en el ELISA de doble anticuerpo. En esto se han empleado Ac poli y monoclonales anti VSR, anticuerpos de captura.

Detección de anticuerpos séricos

El análisis serológico constituye una de las formas de confirmar los resultados de la detección de antígeno del VSR o de realizar el diagnóstico de la infección por este agente cuando no se dispone de las muestras de exudados nasofaríngeos.

Numerosos estudios han reportado que la respuesta humoral al VSR puede variar de acuerdo con la edad, la cual incide en la sensibilidad de la detección de las diferentes clases de inmunoglobulinas.

La detección de anticuerpos al VSR en monosueros y muestras de sueros pares ha sido realizada, fundamentalmente, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), fijación de complemento (FC') y ELISA donde un incremento de 4 veces o más entre los títulos de anticuerpos de sueros pareados ha sido considerado como criterio de infección reciente por este agente. Debido a sus ventajas prácticas el ELISA ha ganado en popularidad y aplicación para el diagnóstico serológico del VSR, reportándose ensayos con diferente sensibilidad y especificidad para la detección de anticuerpos a este agente. En estos ensayos, en general, se observa una mayor sensibilidad en la detección y se ha reportado que el estimar las tres clases de inmunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) contribuye al diagnóstico potencial de la infección por VSR.

EPIDEMIOLOGÍA

La epidemiología de la infección por VSR es única, ya que ningún otro virus respiratorio causa epidemias anuales tan extensas con una morbilidad tan severa en niños menores de 6 meses, a pesar de que afecta a personas de todas las edades. Tiene una amplia distribución mundial. Las enfermedades respiratorias más frecuentes asociadas a la infección por VSR son la bronquiolitis y la neumonía. Las infecciones más graves que requieren hospitalización, se producen en niños que tienen entre 6 semanas y 6 meses de edad, con el pico de incidencia a los 2 meses. La frecuencia y la gravedad de las infecciones disminuyen a medida que aumenta la edad del individuo afectado, especialmente la bronquiolitis.

La enfermedad respiratoria asociada con infección por VSR es un 30 % más común entre varones que entre mujeres, es más frecuente entre niños de raza blanca que negra y entre miembros de familias con bajo nivel socioeconómico.

Como todos los paramixovirus el VSR es extremadamente infeccioso. El 55,4 % de los niños que viven una epidemia se infectan, alcanzando el 98 % en círculos infantiles. Las reinfecciones son también frecuentes. El riesgo para segundas infecciones es del 32 %, mientras que para terceras infecciones es del 20 %.

La reinfección en adultos es también común con un riesgo del 25 al 50 % durante una epidemia de VSR. La transmisión de la infección requiere el contacto directo con los individuos infectados y se produce a través de aerosoles de secreciones respiratorias.

Aparentemente, no existen diferencias entre el comportamiento epidémico de los virus de ambos subgrupos. La edad, el sexo y la proporción de niños hospitalizados infectados por virus A o B son similares.

La categorización clínica de la enfermedad sí parece diferir con los subgrupos, ya que los niños infectados con virus B desarrollan bronquiolitis menos frecuentemente que aquellos infectados con virus A, sin embargo, no existen suficientes datos para afirmar que los virus del subgrupo B son menos virulentos que los del subgrupo A.

La circulación del virus tiene una marcada estacionalidad. Las epidemias en las zonas templadas del mundo ocurren anualmente entre finales del otoño y principios de la primavera y duran aproximadamente 5 meses.

Algunos estudios indican que en zonas del hemisferio norte existe un patrón temporal para el inicio de las epidemias. Así, se alternarían en sucesivos años epidemias de inicio temprano, con picos de incidencia en los meses de diciembre y enero, con otras de inicio

tardío, en los meses de marzo y abril, pero en la mayoría de los casos el pico se alcanza en los meses de febrero o marzo. En el hemisferio sur las incidencias de infección más altas se producen también en los meses más fríos, desde mayo hasta agosto. Algunos estudios señalan que en áreas tropicales o subtropicales, el comportamiento de las epidemias de VSR presenta un patrón diferente, relacionándose con la estación de lluvias y no con los meses de otoño-invierno. Las epidemias de VSR son fenómenos locales o regionales producidos por la cocirculación de distintas estirpes de los dos subgrupos antigénicos. Sin embargo, se han aislado simultáneamente virus muy similares en lugares muy alejados del mundo.

En Cuba, pese a ser un país tropical, la circulación del VSR sigue un patrón estacional similar al descrito para zonas templadas, con epidemias en meses de otoño a invierno, que alcanzan un pico máximo en el mes de febrero. En Ciudad de La Habana, se realizaron estudios de caracterización antigénica y genética de un grupo de cepas que circularon entre los años 94 y 97, observándose una homogeneidad en la respuesta de las diferentes cepas frente a un amplio panel de AcM. La caracterización por análisis de restricción de los genes N y G, y finalmente la secuenciación del gen G confirmaron los resultados obtenidos en la caracterización con AcM. Todas las cepas eran iguales entre sí, muy parecidas a la cepa de referencia Long con cinco cambios a nivel nucleotídico y tres cambios a nivel de aa. El comportamiento de los virus que circularon en este período en Cuba es inusual cuando se compara con los virus que están circulando en otras partes del mundo. Cuba presenta características geográficas, climáticas y socioeconómicas únicas, lo cual podría influir en la diseminación y evolución del virus. Es muy importante continuar con estos estudios en Cuba para determinar si en futuras epidemias se mantiene circulando la misma cepa, o son reemplazadas por nuevas variantes. Además, sería de interés extender estos estudios a otros países con características climáticas y geográficas similares a las nuestras.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

El tratamiento de enfermedades severas por el VSR en el tracto respiratorio bajo requiere considerables medidas de sostén como la remoción de la secreción, administración de oxígeno humidificado y asistencia respiratoria, además de medidas antitérmicas (MAT) en caso de fiebre. También como tratamiento sintomático se utiliza la administración de broncodilatadores nebulizados (salbutamol y epinefrina).

Sólo un componente antiviral ha sido efectivo para el tratamiento de las enfermedades por el VSR: ribavirín (B-D-Ribofuranosil-1,2,4-Triazole -3-Carboxamida). Las pruebas con ribavirín aerosolizado han indicado modestos, pero consistentes efectos beneficiosos tanto en la eliminación del virus como en la enfermedad clínica. Además, el tratamiento con ribavirín disminuye la cantidad de virus liberado por pacientes e incrementa los niveles de oxigenación.

Estudios recientes en animales de experimentación sugieren que la inmunoterapia puede ser útil en el tratamiento de enfermedades del VSRH en el tracto respiratorio bajo. La IgG humana purificada administrada parenteralmente en plena infección por VSR en estos animales provocó una reducción en el nivel del virus en los pulmones. Pruebas clínicas de la eficacia terapéutica de esta, se demostró en lactantes y niños pequeños con neumonía y bronquiolitis por VSRH, siendo los efectos similares a los del ribavirín aerosolizado, es decir, una reducción significativa de la cantidad de virus liberado dentro de las 48 h y un significativo aumento de la oxigenación dentro de las 24 h.

Dada la importancia clínica del VSR, se han tratado de desarrollar distintas vacunas para prevenir la enfermedad. Los primeros ensayos se llevaron a cabo con virus inactivado por tratamiento con formalina. En los niños vacunados, la frecuencia y gravedad de la enfermedad durante una infección natural posterior fueron mucho más elevadas que en niños controles sin vacunar.

La respuesta inmune inducida por la vacuna difiere de la desarrollada frente a una infección natural en dos aspectos importantes. En primer lugar, el virus inactivado indujo niveles altos de anticuerpos no neutralizantes debido, posiblemente, a que los epítopes neutralizantes se alteraron con la inactivación. Además, la respuesta frente a las dos glicoproteínas de superficie del virus (G y F) fue distinta en función de la edad: en niños de

2 a 6 meses, los niveles de anticuerpos fueron mayores frente a la proteína F que a la G, mientras que en niños entre 7 y 40 meses, desarrollaron títulos similares frente a ambas proteínas. En segundo lugar, la vacuna indujo una respuesta celular muy elevada, pero poco equilibrada, detectándose niveles muy bajos de linfocitos T citotóxicos (CD8+), mientras que, en la infección natural, el virus induce niveles similares de linfocitos T citotóxicos y cooperadores (CD4+).

En el año 1986, se reprodujo la patología pulmonar observada en los niños vacunados infectando ratas inmunizadas previamente con el virus inactivado con formalina; la respuesta humoral fue también similar, con bajos títulos de anticuerpos neutralizantes. Aunque se ha sugerido que niveles altos de anticuerpos no neutralizantes podrían intervenir en una reacción de Arthus, la transferencia pasiva de suero inmune en ratas, no induce un aumento en la histopatología pulmonar tras una infección con el VSR. Dichas observaciones sugieren que el fenómeno de exacerbación de la enfermedad podría estar mediado, en parte, por células T. En este sentido, la transferencia de linfocitos T (CD8+ o CD4+) específicos del VSR a ratones, aumenta la patología pulmonar y la mortalidad durante una infección. Se determinó la contribución relativa de los linfocitos T-CD4+ y T-CD8+ en el aumento de la histopatología, eliminando uno u otro tipo de linfocitos, o ambos a la vez, justo antes del desafío con VSRH, en ratones inmunizados previamente con virus salvaje o inactivado. La eliminación de linfocitos T-CD4+ en ratones inmunizados con virus inactivado previno el desarrollo de lesiones pulmonares, mientras que el efecto fue menor en animales infectados previamente de forma natural; la eliminación de los LT-CD8+ no afectó a ninguno de los dos grupos. Estos resultados sugieren que los LT-CD4+ podrían estar implicados en el agravamiento de la patología pulmonar, posiblemente debido a su participación en una reacción retardada.

Debido a los resultados obtenidos con las vacunas inactivadas, los esfuerzos se dirigieron al desarrollo de vacunas atenuadas. En principio, se prepararon virus adaptados a replicar a bajas temperaturas tras pasar el VSR a 34, 28 y 26 °C sucesivamente. Aunque estos virus indujeron una respuesta inmune en adultos, fueron virulentos en niños sin contacto previo con el virus. Más tarde, se prepararon mutantes del VSR sensibles a la temperatura (ts) usando 5-fluoridina como mutágeno. Después de su evaluación *in vitro* e *in vivo* (hámsters), se seleccionaron dos mutantes ts-1 y ts-2. El primero de ellos fue genéticamente inestable en el 0,1 % de los niños vacunados, y el segundo, presentó una capacidad limitada para inducir una respuesta inmune eficaz.

Estos datos resaltan la importancia de un estudio detallado de la biología molecular del virus y de sus productos génicos, para determinar cuál de las proteínas es capaz de inducir una respuesta inmune protectora y evaluar su posible participación en el agravamiento de la enfermedad observado en las vacunas inactivadas.

PAROTIDITIS

La parotiditis fue descrita por Hipócrates en el siglo V antes de Cristo, es una enfermedad contagiosa aguda caracterizada por aumento de volumen sin supuración de una o ambas glándulas parótidas.

Otros órganos también pueden afectarse durante el período de la infección como son los testículos, ovarios y sistema nervioso central.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

Para que se produzca el contagio con esta enfermedad, es necesario un contacto directo, no necesariamente íntimo, con la persona infectada.

La infección natural se inicia por aerosoles de secreciones respiratorias de una persona infectada a una susceptible, iniciándose la replicación del virus a nivel del epitelio de la mucosa del aparato respiratorio superior.

Posteriormente, el virus pasa hacia los ganglios regionales con la subsecuente diseminación a la sangre, produciéndose una viremia primaria y la aparición de inflamación de las glándulas salivales. Luego de esta etapa se inicia una viremia secundaria que permite la infección de otros órganos y tejidos del cuerpo.

El primer síntoma clínico está relacionado con la infección de las glándulas parótidas, observándose edema del conducto de la glándula y reacción inflamatoria local con aumento de linfocitos y macrófagos.

El sistema nervioso central, se afecta comúnmente en la infección por este virus. El primer sitio de replicación son los plexos carotídeos, a partir de los cuales se produce la diseminación de la infección.

En el líquido cefalorraquídeo se produce pleocitosis y las manifestaciones neurológicas están relacionadas con una meningitis infecciosa.

Frecuentemente, el virus infecta a los riñones, replicándose en las células epiteliales de los túbulos distales, cálices, y uréteres. En muchos pacientes se puede detectar viruria, como expresión del compromiso renal alrededor de los 14 días de iniciados los síntomas clínicos.

Los testículos y ovarios pueden también estar afectados, sobre todo esta complicación se observa en el hombre en la etapa postpuberal. Los túbulos seminíferos son el primer sitio de replicación viral, con infiltrado linfocitario local y edema intersticial, este edema es el causante del dolor observado en el paciente afectado.

En los testículos, como consecuencia de la infección, hay pérdida de la elasticidad en la túnica albugínea, que no permite el aumento de volumen del mismo debido a la inflamación. La presión mantenida a este nivel, produce atrofia testicular y necropsia .

DATOS CLÍNICOS

El cuadro clínico de la parotiditis, refleja la patogénesis de la infección. Es una enfermedad no complicada en la cual alrededor de un tercio de las infecciones cursan de forma asintomática.

Después de un período prodrómico de malestar general, anorexia y cefalea, se inicia el cuadro que puede ir acompañado o no de fiebre y, generalmente, aparece como único signo el aumento de volumen de una o ambas glándulas parótidas. El aumento bilateral de estas glándulas afecta al 90 % de los casos, y el dolor se vuelve intenso, sobre todo cuando se ingieren sustancias ácidas. En este proceso también se ven involucradas las glándulas submaxilares y las sublinguales.

Las complicaciones en el transcurso de la enfermedad no son frecuentes, pero una amplia variedad de otros órganos se involucra en el curso de la parotiditis, como son el SNC, epidídimo, próstata, hígado, páncreas, bazo, tiroides, corazón, glándulas mamarias, riñones, etc.

En la cuarta parte de los hombres se desarrolla orquitis, la cual es más frecuente unilateral que bilateral, y produce dolor. La esterilidad masculina ha sido relacionada con esta complicación.

La frecuencia de la meningoencefalitis siguiendo la parotiditis es variable. Es una meningoencefalitis aséptica la cual está marcada por fiebre, vómitos, rigidez de nuca, cefalea, y letargo en el 15 % de los casos y se desarrolla a los 5 días de la enfermedad.

El electroencefalograma es normal y el análisis del líquido cefalorraquídeo demuestra pleocitosis mononuclear.

La mayoría de los casos de meningoencefalitis por parotiditis resuelven sin secuelas, pero en pocos casos se ha podido observar sordera unilateral.

Otra complicación que debemos considerar es la pancreatitis, la cual es ligera y aparece en alrededor de un 10 % de los pacientes.

Durante el embarazo la infección no aumenta la incidencia de malformaciones congénitas, pero aumenta el riesgo de abortos espontáneos.

INMUNIDAD

La aparición de este virus en el suero, va seguida de una respuesta de anticuerpos, los cuales pueden ser detectados a los 11 días de iniciada la infección.

A los 5 días de la enfermedad se produce IgA en la saliva de los pacientes, lo que está correlacionado con la presencia de excreción viral en la misma.

La inmunidad es permanente después de la infección, ya que existe solamente un tipo antigénico del virus y no hay variación significativa. La infección incluye la formación de anticuerpos de tipo IgM específicos que aparecen a los 3 o 4 días después de iniciados los síntomas clínicos, alcanzando su pico máximo entre las semanas 1 y 2 de la enfermedad y pueden detectarse hasta después de 3 meses de iniciados los síntomas clínicos.

Los anticuerpos de tipo IgG son detectados una semana después de la infección y persisten mucho tiempo después de la infección aguda y se mantienen de por vida.

La inmunidad celular participa en la curación y protección frente a la reinfección.

La madre transfiere sus anticuerpos a su hijo por vía transplacentaria, por lo que es raro observar esta enfermedad en lactantes menores de 6 meses.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de la parotiditis se debe diferenciar de otras enfermedades que producen aumento de volumen de las glándulas parótidas por otras causas de etiología no infecciosa tales como la sensibilidad al yodo, sarcoidosis, tumores, infecciones supurativas, etc.

En los pacientes se deben tomar muestras de saliva, orina, suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) que permiten realizar el diagnóstico de la enfermedad, ya sea por aislamiento viral o por estudios serológicos.

Las muestras de saliva permiten el aislamiento cuando son tomadas en un período no mayor que 8 días del inicio de los síntomas, las de orina en 2 semanas y las de LCR entre 8 o 9 días de inicio de la meningitis.

Para el aislamiento se emplean células VERO y HELA, siendo el efecto citopático la formación de sincitios.

La confirmación del aislamiento se realiza por inmunofluorescencia o neutralización.

Estudio serológico

La confirmación de la parotiditis tradicionalmente se realiza por demostración de un aumento del título de anticuerpos de tipo IgG en los sueros de la fase aguda y de convaleciente, para lo cual se deben recoger sueros al inicio y de 2 a 3 semanas después de la enfermedad.

La determinación de anticuerpos de tipo IgM en la fase aguda empleando el sistema ELISA es muy importante para el diagnóstico porque es indicativo de infección aguda. La IgM está presente desde el principio de la enfermedad y raras veces dura más de 60 días.

Existen varias técnicas serológicas que se pueden emplear para el diagnóstico de esta patología como son, la fijación del complemento, la hemaglutinación, neutralización, inmunofluorescencia, hemólisis en gel, radioinmunoensayos, ELISA, etc.

EPIDEMIOLOGÍA

Es una enfermedad cosmopolita, la cual se presenta durante todo el año. Aparece fundamentalmente en niños en edad escolar entre 5 y 14 años. Es muy contagiosa y se transmite a través de las secreciones respiratorias en el aire o fómites contaminados con saliva u orina y cuando el hacinamiento favorece la diseminación del virus aparecen brotes.

Tiene un período de incubación de 18 días y su período de transmisibilidad es de casi 6 días antes a una semana días después del inicio de los síntomas.

La mortalidad producida por este virus es rara y la incidencia de la misma, así como sus complicaciones declinaron notablemente a partir de la introducción de la vacuna con virus vivo atenuado.

TRATAMIENTO

El tratamiento es sintomático, el paciente debe permanecer en su casa hasta que desaparezcan los signos clínicos de la enfermedad y se ha podido comprobar que el uso de las gammaglobulinas no tiene efecto protector contra la misma.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Actualmente se emplea una vacuna viva atenuada, la cual es muy eficaz, no produce efectos colaterales e induce inmunidad en más de un 98 % de los receptores.

Los anticuerpos inducidos por la inmunización producen títulos más bajos que los producidos por la infección natural, pero la protección es larga.

Existe una vacuna de parotiditis monovalente y una polivalente combinada con sarampión y/o rubéola.

La inmunización se recomienda a los 15 meses de edad, por la presencia de los anticuerpos maternos en los primeros meses de la vida, que interfieren la producción de anticuerpos inducidos por la vacuna.

Está contraindicada en mujeres embarazadas, pacientes que reciben terapia inmunosupresiva, enfermedades febriles, malignas o inmunodeficiencias, con excepción de los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), donde está recomendado el uso de la triple viral, ya que en estudios realizados no se han encontrado reacciones adversas.

En Cuba, desde 1988, después de la introducción de la vacuna triple viral, se ha puesto en práctica un programa para la eliminación del sarampión, la rubéola y la parotiditis, disminuyendo grandemente el número de casos positivos a esta entidad, no teniendo actualmente ningún caso reportado.

SARAMPIÓN

El sarampión es una enfermedad viral cuyo reservorio natural es el humano. Este virus se aisló, por primera vez, en cultivo primario de riñón de mono en 1954, lo que conllevó al desarrollo de vacunas de virus muertos y virus vivos atenuados en los inicios de los 60.

La introducción de la vacuna viva atenuada ha provocado una disminución rápida en el número de casos de sarampión en los países donde se aplica, pero aún existen en el mundo más de 70 000 000 de personas que padecen esta enfermedad, resultando en más de 1 000 000 de muertes infantiles.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

La infección natural se inicia con la multiplicación del virus en las células epiteliales del aparato respiratorio superior y la orofaringe. Después de proliferar localmente en la mucosa respiratoria, se disemina a través de los monocitos y otras células móviles, a los nódulos linfáticos regionales donde continúa la replicación. El virus infecta los leucocitos mononucleares, produciéndose la llamada viremia primaria, diseminándose la infección al sistema reticuloendotelial (amígdalas, adenoides, tejido linfático del aparato respiratorio y gastrointestinal, nódulos linfáticos, timo, bazo, apéndice y placas de Peyer). En este período la infección es clínicamente inaparente, excepto por la leucopenia que en esta fase se observa.

La replicación en estos sitios, da lugar a una viremia secundaria con la diseminación del virus a través del cuerpo, incluyendo piel, conjuntiva, orofaringe, mucosa respiratoria, pulmones, mucosa genital, riñones, tracto gastrointestinal y bazo.

En este momento se producen los pródromos de la enfermedad (coriza, tos y conjuntivitis) y la replicación en el aparato respiratorio puede convertirse en severa y predisponer a infecciones bacterianas y neumonías.

La infección del endotelio vascular desempeña una función importante en la patogénesis, ya que la infección de las células endoteliales de los pequeños vasos y de la dermis, da lugar a la aparición del *rash* y de los síntomas locales observados; acompañado todo esto de dilatación vascular, infiltrado perivascular con células mononucleares e incremento de la permeabilidad vascular trayendo como consecuencia la aparición de edema e infiltración mononuclear.

Durante la infección por el virus del sarampión, se forman células gigantes multinucleadas debido a la fusión de las células infectadas con otras vecinas, estas células gigantes contienen cuerpos de inclusión eosinofílicos intracitoplasmáticos e intranucleares.

Las manchas de Koplik, úlceras pequeñas de color blanco azulado a nivel de la mucosa oral, son un signo patognomónico de esta enfermedad, aparecen aproximadamente 2 días antes del inicio del *rash* y su origen ha sido atribuida a la infección de las células endoteliales en la superficie de los vasos en el corium, produciéndose cambios histopatológicos como son hiperemia, edema e infiltración linfocitaria a este nivel.

DATOS CLÍNICOS

Sarampión clásico

Aproximadamente de 1 semana a 10 días después de la exposición, comienzan las manifestaciones clínicas de coriza, tos, conjuntivitis, fiebre, secreción nasal y linfopenia, este período prodrómico dura alrededor de 3 a 4 días. Durante este tiempo comienzan a hacerse visibles las manchas de Koplik a nivel de la mucosa oral, las cuales son pequeñas manchas rojas brillantes e irregulares (1 a 3 mm), que tienen una depresión blanco azulosa en su centro y se encuentran situadas en la mucosa opuesta a los molares, proporcionando un diagnóstico temprano de la enfermedad.

A partir del cuarto o quinto día, los síntomas se intensifican acompañándose de un incremento en la fiebre con la aparición de un *rash* maculopapular que aparece primeramente en la cara y detrás de las orejas, para luego diseminarse en forma centrípeta al tronco y las extremidades, posteriormente la erupción declina y se resuelve en forma descamativa.

En el sarampión no complicado, la fiebre puede ser de 39 a 40 °C en el momento de la erupción, para luego disminuir al tercer o cuarto día del *rash*.

Complicaciones

Sarampión modificado. La infección por el virus del sarampión da lugar a diferentes complicaciones entre las que tenemos el sarampión modificado, que aparece en las personas parcialmente inmunizadas, como son aquellas que han recibido inmunoglobulinas después de la exposición al virus, niños con anticuerpos maternos residuales y personas que han perdido inmunidad después de haber sido vacunadas o infectados naturalmente.

Este tipo de sarampión es más leve que el clásico, pero el período de incubación puede prolongarse hasta 21 días, los pródromos pueden o no estar presentes, la fiebre es leve, puede o no haber manchas de Koplik y cuando estas aparecen, solo hay un pequeño número que rápidamente desaparece, el *rash* dura poco y es muy atenuado. Los pacientes con este tipo de sarampión, muy raras veces transmiten la enfermedad a otros.

Sarampión atípico. El cuadro de sarampión atípico severo se observa en las personas que recibieron la vacuna de sarampión inactivada con formalina y se pusieron en contacto directo con el virus salvaje.

La sintomatología está constituida por fiebre alta, cefalea, mialgias, dolor abdominal, anorexia, tos no productiva y disnea, apareciendo posteriormente un *rash* que comienza por las palmas de las manos y plantas de los pies para después diseminarse de forma centrípeta a las extremidades proximales, tronco y cara.

Inicialmente el *rash* es eritematoso y maculopapular, progresando posteriormente a petequeal o vesicular, apareciendo lesiones purpúricas acompañadas por hiperestesia y edema de manos y pies.

Todo este cuadro va acompañado de neumonía con un infiltrado intersticial, consolidación pulmonar y muchos de los casos reportados presentan derrame pleural, adenopatías hiliares y lesiones parenquimatosas que pueden persistir años después de la desaparición de la infección aguda.

El virus no ha podido ser aislado de las personas que padecen la enfermedad, y no se considera que la misma pueda transmitirse de unos a otros.

No hay manchas de Koplik y el diagnóstico diferencial se debe hacer principalmente con la fiebre manchada de las montañas rocosas.

Se considera que las manifestaciones atípicas de esta enfermedad son el resultado de la respuesta inmunopatológica que aparece al combinar elementos de hipersensibilidad retardada con una reacción de Arthus.

Neumonía bacteriana. Es responsable de aproximadamente el 60 % de las muertes asociadas con sarampión. Resulta de una infección bacteriana sobreañadida y debe ser sospechada cuando un paciente con sarampión desarrolla diéstrres respiratorio y se produce un incremento de la fiebre.

Esta neumonía responde rápidamente al tratamiento con antibióticos.

Neumonía de células gigantes. Los niños y adultos que presentan una deficiente inmunidad mediada por células pueden desarrollar una infección al virus del sarampión, generalmente, severa y progresiva y cuyo curso puede ser fatal.

La manifestación más frecuente de este sarampión progresivo es la neumonía de células gigantes la cual se caracteriza por una insuficiencia respiratoria creciente que comienza 2 o 3 semanas después de la exposición al virus.

Se desarrolla una neumonía intersticial progresiva con células gigantes multinucleadas a todo lo largo del epitelio traqueobronquial y alveolar.

La mortalidad por esta neumonía es de alrededor de un 70 % en pacientes con patologías oncológicas y de un 40 % en personas infectadas con el VIH.

Encefalitis postinfecciosa aguda. Es una enfermedad autoinmune desmielinizante asociada a una respuesta inmune a la proteína básica de la mielina. Las personas que sobreviven a esta patología a veces presentan alteraciones mentales permanentes (psicosis o cambios de la personalidad) o discapacidad física (en particular trastornos convulsivos). El mecanismo por el cual esta enfermedad se relaciona con la infección por el virus del sarampión, aún no está bien claro. Se presenta en alrededor de 1:1 000 casos.

Encefalitis de cuerpos de inclusión. La encefalitis de cuerpos de inclusión se puede presentar en pacientes inmunocomprometidos infectados por el virus del sarampión. Esta enfermedad puede aparecer sola o acompañada de una neumonía de células gigantes.

Los síntomas neurológicos aparecen de 1 a 6 meses después de la exposición, generalmente no presentan fiebre, el estudio del líquido cefalorraquídeo es normal y el electroencefalograma presenta alteraciones no específicas.

La progresión es rápida y la mayoría de las muertes entre 6 y 8 semanas de iniciado el cuadro. La mortalidad excede el 85 %.

Panencefalitis esclerosante subaguda. Es una complicación tardía con una incidencia de aproximadamente 1: 100 000 casos. El inicio de los síntomas es insidioso después de 5 a 15 años de la infección con el virus del sarampión. Se caracteriza por deterioro mental progresivo, movimientos involuntarios, rigidez muscular y coma. La presencia de anticuerpos al virus del sarampión es elevada en el suero y en el líquido cefalorraquídeo y se encuentran virus defectuosos en las células gliales y las neuronas.

INMUNIDAD

La respuesta inmune ante la infección por el virus del sarampión es esencial para la recuperación de la enfermedad y el establecimiento de la inmunidad.

Los anticuerpos adquiridos pasivamente a través de la madre confieren protección al niño durante los 6 primeros meses de vida. La duración de esta protección es variable, debido a que pueden mantenerse anticuerpos maternos residuales hasta el año de edad que interfieren con los producidos por la administración temprana de la vacuna antisarampionosa.

La inmunidad humoral está dada por la presencia de anticuerpos de tipo IgG e IgM a esta enfermedad que comienzan a aparecer en la fase de pródromos y alcanzan su valor máximo al inicio del *rash*. Los de tipo IgM declinan a las 6 u 8 semanas hasta niveles no detectables; en el caso de los IgG persisten para toda la vida.

La inmunidad celular también es relevante en la protección frente a la infección con el virus del sarampión, ya que permite eliminar de las células al virus infectante.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El sarampión clásico puede diagnosticarse de manera precisa de acuerdo con las características de las manifestaciones clínicas que se presentan, así como a las condiciones epidemiológicas existentes. La ayuda del laboratorio es fundamental cuando aparece un caso de sarampión atípico y modificado, así como cuando encontramos un alto índice de sospecha de neumonía o encefalitis producidas por el virus en pacientes inmunocomprometidos.

El diagnóstico diferencial de esta enfermedad se realiza con aquellas patologías productoras de *rash* tales como, la infección por enterovirus, rubéola, dengue, parvovirus B19, herpes 6, *rash* medicamentoso u otras alergias, roseola infantil, etc.

Aislamiento e identificación viral

Para el aislamiento del virus en cultivo de células son necesarias muestras de exudado nasofaríngeo y conjuntival, sangre, orina y el material de necropsia, cuando la situación sea especial.

Las muestras deben ser recogidas en la fase aguda de la enfermedad, cuando el virus se encuentra en altas concentraciones. Las mismas deben ser refrigeradas y enviadas al laboratorio en un período de 48 h.

Para el aislamiento se emplea cultivo primario de riñón humano y de mono, además de las células de línea continuas (Vero, B95a, CV-1) las cuales varían en su susceptibilidad al virus. El efecto citopático típico en las células infectadas es la presencia de sincitios, los cuales se observan de 7 a 10 días después de la inoculación.

A través de la prueba de inmunofluorescencia se realiza la identificación del aislamiento obtenido en los cultivos inoculados.

Diagnóstico serológico

Para el diagnóstico de sarampión también se utilizan los estudios serológicos.

Un aumento de 4 veces o más entre el título del suero de la fase aguda y la de convaleciente, ayudan a confirmar esta enfermedad, así como la presencia de anticuerpos del tipo IgM en el suero tomado entre los días 1 al 5 después de la aparición del exantema y en la saliva, lo que indica que estamos en presencia de una infección aguda.

Durante la infección primaria, los anticuerpos son detectables entre el primer y tercer días de iniciado el *rash*, alcanzando su valor máximo de 2 a 4 semanas.

Las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (IH), neutralización (Nt), ELISA, inmunofluorescencia (IF), pueden emplearse para medir anticuerpos contra este virus. La IH fue la más ampliamente empleada, hasta la introducción del ELISA que permite la detección de anticuerpos del tipo IgG, IgM e IgA.

La campaña de eliminación del sarampión, requiere del empleo de nuevas pruebas apropiadas para emplear en lugares de difícil acceso, para lo cual se utilizan muestras como la saliva y la sangre colectada en papel de filtro, que facilitan la realización del diagnóstico.

La reacción en cadena de la polimerasa (RCP) y la hibridación molecular son métodos que se emplean en la detección de ARN al virus del sarampión, sobre todo en estudios de epidemiología molecular, estas técnicas no deben ser consideradas dentro del diagnóstico de rutina de la enfermedad.

EPIDEMIOLOGÍA

El sarampión es una de las más infecciosas de las enfermedades transmisibles, se estima que el 76 % de los susceptibles expuestos se contagian.

Su distribución es mundial, aparece al final del invierno y principios de la primavera, no existe reservorio animal y no hay evidencias de latencia o de infección persistente.

En los países desarrollados, la ausencia de brotes de la enfermedad por el uso de la vacuna, ha hecho que los casos se produzcan en niños de 5 a 9 años de edad y que la mayoría de los riesgos de complicación y mortalidad sean en edades inferiores a 15 años y en el adulto joven.

En los países subdesarrollados, más del 50 % de los casos ocurre en niños menores de 2 años, debido a la rápida pérdida de los anticuerpos maternos en este grupo de edad, a que la intensidad de exposición a la infección es mayor debido al tamaño familiar y a las prácticas sociales que se realizan, así como a que en los niños con malnutrición la excreción del virus es más prolongada.

No es frecuente la mortalidad por sarampión bajo condiciones aceptables de nutrición y salud. La muerte ocurre por la aparición de complicaciones de tipo respiratorias y neurológicas y en personas inmunocomprometidas.

La infección durante el embarazo aumenta la posibilidad de partos prematuros, abortos espontáneos, bajo peso al nacer, pero no da lugar a malformaciones congénitas.

En muchos países subdesarrollados el sarampión es una de las principales causas de muerte en niños de 1 a 5 años, para lo cual intervienen muchos factores tales como, la exposición masiva al virus, edades tempranas de infección, malnutrición, la infección simultánea con otros agentes que pueden afectar la respuesta inmune.

El principal modo de transmisión es a través de las vías respiratorias, por el contacto de individuos susceptibles con personas infectadas que se encuentran en el estadio catarral de la enfermedad.

El riesgo de transmisión se incrementa mientras más frecuente, prolongado e íntimo, sea el contacto del susceptible con la persona infectada.

Desde el año 1994, la OPS/OMS, adoptó la estrategia de eliminar el sarampión en las Américas para el año 2000, por lo que se tomaron medidas entre las que están, lograr coberturas vacunales por encima de un 90 %, mantener una vigilancia minuciosa de las enfermedades febriles exantemáticas y realizar pruebas de laboratorio para confirmar el diagnóstico del sarampión, como son el ELISA para detección de anticuerpos de tipo IgM y el aislamiento viral.

A pesar de estas medidas, el sarampión sigue apareciendo en algunos países de América como Brasil y Bolivia, donde la cobertura vacunal no ha llegado al tanto por ciento propuesto por la OPS.

En Cuba, se realizaron diferentes estrategias para el control del sarampión mediante la inmunización y, en 1988, se creó un programa para la eliminación de esta enfermedad, para lo cual, se han logrado coberturas de vacunación de un 95 %, existe un sistema de vigilancia epidemiológica y se toman medidas de control de foco. Todas estas medidas han permitido que no se reporten casos de sarampión desde julio de 1993, a los 5 años de iniciado el programa.

TRATAMIENTO

No se dispone de medicamentos antivirales eficaces para el tratamiento del sarampión y sus complicaciones, por lo que este debe ser sintomático. Las infecciones bacterianas, cuando se presentan, deben ser tratadas con el antibiótico apropiado.

En diferentes estudios se ha planteado el uso de inmunoglobulinas para la profilaxis de la infección, sobre todo en pacientes inmunocomprometidos que se supone tengan una pérdida de la inmunidad humoral y deben ser administradas antes del quinto día de la exposición.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Las vacunas inactivadas fueron las primeras en utilizarse y sus fallos conllevaron a la pérdida rápida de los anticuerpos y al desarrollo del sarampión atípico, por la inmunización exclusiva contra las proteínas NH y la no-protección ante la proteína F.

El amplio uso de la vacuna viva atenuada contra el sarampión, ha cambiado los patrones de la enfermedad en muchos países donde se aplica. Se ha reducido la incidencia de esta patología, ha aumentado la edad de infección y el intervalo entre epidemias.

Esta vacuna se puede usar sola o combinada con la rubéola y la parotiditis (vacuna triple viral sarampión, rubéola y parotiditis), sin reducción de la capacidad inmunogénica de alguno de los 3 componentes.

Los títulos de los anticuerpos vacunales son menores a los producidos por la infección natural, pero la inmunidad inducida por la vacuna puede durar por lo menos 23 años o toda la vida.

La edad de vacunación recomendada varía de 6 a 15 meses. En lugares donde hay una alta prevalencia de sarampión la vacunación se realiza a los 9 meses, y en aquellos donde la inmunización es frecuente se debe realizar a los 12 o 15 meses de edad.

El sarampión es una enfermedad que puede ser erradicada a través de la vacunación, debido a que el virus presenta solo un serotipo, muchos de los casos son clínicamente identificables, no hay reservorio animal y existe una vacuna. El alto grado de transmisibilidad de este virus requiere el mantenimiento de una cobertura de vacunación de más de 95 %, lo que significa una disminución en la aparición del sarampión y sus complicaciones.

La inmunidad pasiva, a través del uso de gammaglobulinas hiperinmune, se puede emplear siempre y cuando se administre precozmente, en los 6 primeros días de la exposición a la fuente de contagio.

RUBÉOLA (SARAMPIÓN ALEMÁN)

La rubéola (sarampión alemán o sarampión de 3 días), fue descrita por dos médicos alemanes a mediados del siglo XVIII.

Es una enfermedad febril que se caracteriza por presentar adenopatías suboccipitales, retroauriculares y exantema; afecta a niños y adultos jóvenes y tiene un curso leve sin muchas complicaciones.

Es el agente causal del síndrome de rubéola congénita (SRC), lo que llevó a desarrollar vacunas de virus vivos atenuados a mediados de la década del 60.

CLASIFICACIÓN

El virus de la rubéola es un miembro de la familia *Togaviridae* y el único miembro del género *Rubivirus*.

Es un virus esférico, mide de 60 a 70 nm de diámetro y está envuelto por una capa lipídica, presenta un ARN infeccioso, de polaridad positiva, de simple cadena que está compuesto por aproximadamente 10 000 nucleótidos.

Es lábil al calor, se inactiva rápidamente a 56 °C y en presencia de solventes orgánicos. Puede ser almacenado varios días a 4 °C y por períodos prolongados a menos 60 °C.

Presenta 2 proteínas estructurales E1 y E2, las cuales se encuentran en la envoltura del virión y producen proyecciones en su superficie que interactúan con la superficie de la célula huésped específica a la cual van a infectar. Además presenta una proteína no estructural, la proteína C, que se encuentra en el núcleo del virión.

Este virus se une a la célula huésped por interacción de las proteínas de la envoltura con los receptores de la superficie de la célula. El ARN actúa como ARN mensajero (ARNm).

El ciclo reproductivo ocurre en el citoplasma de la célula produciéndose una cadena de ARNm negativa complementaria al ARN positivo del propio virión.

Esta cadena negativa participa en la síntesis de dos moléculas de ARNm positivas de longitud genómica y subgenómica. El genómico codifica las poliproteínas que dan lugar a la proteína C no estructural y el subgenómico a las estructurales E1 y E2 que forman parte de la envoltura del virus.

Posteriormente se produce el ensamblaje y maduración del virus dentro de vacuolas intracelulares y la salida por gemación de la célula huésped. Existe un solo serotipo, que no tiene relación con otros togavirus y no se transmite por artrópodos.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

La enfermedad se transmite por aerosoles de las personas infectadas a individuos susceptibles. El virus se multiplica a nivel de la mucosa del aparato respiratorio superior y luego

se disemina por vía linfática a los ganglios regionales. La replicación en estos ganglios es la causa de las linfadenopatías retroauriculares y retrooccipitales.

Después de un período de incubación de 7 a 10 días, se produce la aparición del virus en el suero, esta fase virémica está marcada por los pródromos de la enfermedad.

Con la aparición del *rash*, la viremia cesa, comenzando el período de detección de los anticuerpos circulantes.

Después del exantema, el virus permanece detectable en la nasofaringe, donde puede permanecer varias semanas.

Esta patología cursa de forma asintomática en el 25 % de los casos.

En el síndrome de rubéola congénita se produce una infección de las células en la placenta y el feto. Aunque un número limitado de estas son infectadas, la tasa de crecimiento se reduce, trayendo como resultado que el número de células en los órganos infectados sea inferior al que le corresponde normalmente, produciéndose una hipoplasia de los órganos y alterándose su desarrollo, dando lugar a anomalías estructurales en el recién nacido.

Los hallazgos histopatológicos en la placenta incluyen fibrosis perivascular, edema y necrosis.

El estadio del embarazo en el cual se produce la infección viral determina la extensión del efecto teratógeno, por tanto, mientras más temprano sea, mayor será el daño causado. Muy pocos fetos escapan a la infección durante el primer mes de gestación.

En la mujer embarazada se puede producir una infección inaparente que también causa daños al feto.

DATOS CLÍNICOS

Rubéola postnatal. La infección por el virus de la rubéola, se produce fundamentalmente en niños y adultos jóvenes, no es una patología severa y en muchos casos se manifiesta de forma subclínica.

Las secreciones nasofaríngeas son la principal fuente de infección, pero los contactos casuales pueden no llevar a que esta se produzca.

El período de incubación es de 14 a 21 días, después del cual el *rash* puede aparecer.

La enfermedad se caracteriza por una combinación de síntomas entre los que tenemos, *rash* maculopapular, linfadenopatías cervicales y suboccipitales las cuales son dolorosas en los adultos, no así en los niños, fiebre no muy elevada, conjuntivitis, dolor de garganta y artralgia.

El *rash* es el signo más prominente de la enfermedad y aparece en el 95 % de los casos, se inicia en la cara, se extiende al tronco y las extremidades y raramente dura más de 3 días.

Pueden aparecer artropatías, trombocitopenia y encefalopatías en un período más tardío de la enfermedad.

Las complicaciones no son frecuentes, pero en algunos casos podemos encontrar poliartralgia, artralgias y artritis, especialmente cuando la infección ocurre en adolescentes y mujeres adultas.

La complicación más seria encontrada es la encefalitis postinfecciosa, la cual ocurre en 1 de cada 6 000 casos, aparece del primero al sexto días de iniciado el *rash*.

Síndrome de rubéola congénita (SRC). Se produce en mujeres infectadas por el virus durante el primer trimestre del embarazo, lo que da lugar a una infección fetal la cual puede ser persistente o generalizada provocando una enfermedad multisistémica en el feto.

Puede dar lugar a la muerte del feto, aborto espontáneo o a malformaciones congénitas, dependiendo de la edad gestacional que tenga la madre.

Algunos de los defectos producidos pueden ser reconocidos en el momento del nacimiento, y otros solo se detectan meses o años más tarde.

Las manifestaciones del síndrome pueden ser transitorias (ejemplo, púrpuras), manifestaciones estructurales permanentes (ejemplo, defectos del sistema nervioso central) o problemas que emergen posteriormente (ejemplo, diabetes).

Las malformaciones que se pueden observar durante el SRC pueden ser generales (muerte fetal, bajo peso al nacer, retardo mental), del sistema auditivo (pérdida de la audición unilateral o bilateral, defectos al hablar), del sistema cardiovascular (persistencia del conducto

arterioso, estenosis pulmonar, defectos en el tabique interventricular), sistema ocular (retinopatía pigmentaria, cataratas, microoftalmo), manifestaciones transitorias en el neonato (trombocitopenia, hepatoesplenomegalia, meningoencefalitis, etc.)

INMUNIDAD

La presencia de anticuerpos IgM, IgG e IgA se puede detectar al comienzo del *rash*.

La respuesta de anticuerpos de tipo IgM específica al virus de la rubéola, se observa al inicio de la enfermedad e indica que la infección está en fase aguda. Los mismos aparecen al 4 día de iniciada la infección y persisten alrededor de 4 a 12 semanas, pudiendo raramente extenderse en algunos casos hasta un año.

Los de tipo IgG, hablan de la existencia de una infección previa por el virus de la rubéola, los mismos se detectan de 7 a 10 días de iniciado el *rash* y perduran para toda la vida.

La enfermedad natural y la vacunación dan lugar a una gran protección y la reinfección puede ocurrir en personas con disminución en el nivel de anticuerpos por inmunodeficiencias o por pérdida de la inmunidad inducida por la vacuna.

En el SRC, la respuesta inmune difiere de la observada en la infección por rubéola en mujeres no embarazadas. Los niños con SRC, al nacer contienen, además de los anticuerpos de tipo IgG adquiridos por vía transplacentaria de la madre, anticuerpos de tipo IgM, estos no atraviesan la barrera placentaria y si son detectados en el feto, es porque han sido sintetizados por este debido a la infección por el virus. Se detectan de 3 a 6 meses del nacimiento y aproximadamente en 1/3 de los niños perduran de 6 meses a 2 años.

En niños mayores de un año es muy difícil confirmar al virus de la rubéola como el agente etiológico específico de las malformaciones congénitas que presentaron al nacer.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico clínico es difícil de realizar, ya que se debe hacer diagnóstico diferencial con otras patologías productoras de *rash*, tales como sarampión, parvovirus B19, herpes virus 6, coxsackie, echo, enterovirus, adenovirus, dengue, alergia a medicamentos, etc. Por lo que el diagnóstico de laboratorio es fundamental.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION VIRAL

El virus puede ser aislado de las secreciones nasofaríngeas, sangre y orina; así como por tejido de necropsia cuando es necesario.

Las muestras deben ser almacenadas a 4 °C y luego trasladadas al laboratorio en frío.

Se multiplica en una gran variedad de líneas celulares, pero produce muy poco efecto citopático.

Para el aislamiento del virus se emplean las células *Rabbit Kidney Line* (RK13), células de riñón de mono verde (Vero) y células de riñón de hámster recién nacido (BHK 21). El efecto citopático característico se produce en las células de 3 a 7 días de inoculadas.

La identificación del aislamiento puede ser por neutralización o inmunofluorescencia, usando antisuero o anticuerpos monoclonales.

TÉCNICAS SEROLÓGICAS

Se emplean tanto para el diagnóstico postnatal, como en el caso de infecciones congénitas o para determinar el estado inmune de una población.

Muchas técnicas se encuentran disponibles para la detección de anticuerpos IgM o IgG, entre las que tenemos, la hemólisis radial, el ELISA, aglutinación por látex, la IH y la neutralización.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DEL SÍNDROME DE RUBÉOLA CONGÉNITA

Para que este diagnóstico se realice en el período postnatal se debe:

1. Detectar la IgM específica al virus de la rubéola en sangre del cordón y en muestras de suero de los niños.
2. Demostrar la persistencia de anticuerpos de tipo IgG en niños de 8 meses de edad cuando los anticuerpos maternos han desaparecido.
3. Hacer el aislamiento del virus o la detección de ARN viral por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa durante los primeros meses de la vida.

La hibridación de ácidos nucleicos y reacción en cadena de la polimerasa (RCP), se emplean para detectar el ARN del virus de la rubéola en productos de concepción, biopsias, líquido amniótico. La RCP proporciona una técnica sensible y rápida, pero no se emplea como sistema de diagnóstico rutinariamente por ser muy costosa.

En ausencia de confirmación por el laboratorio, un diagnóstico clínico compatible con SRC, requiere de la presencia de dos de los siguientes síntomas, cataratas y/o glaucoma congénita, enfermedades cardíacas congénitas, pérdida de la audición, o retinopatías pigmentarias. Uno de los signos anteriores, más otras manifestaciones adicionales como son púrpura, microcefalia, retardo mental y meningoencefalitis, ayudan a realizar el diagnóstico de la enfermedad.

EPIDEMIOLOGÍA

La rubéola tiene una distribución mundial, hace picos estacionales durante la primavera y el inicio del verano. Solo existe un serotipo y su único huésped es el humano.

No es una enfermedad severa y la infección puede ser subclínica. Generalmente, afecta a los niños de 5 a 9 años y adultos jóvenes. El uso de la vacuna en aquellos países con programas de vacunación efectivos han extendido los picos epidemiológicos de 3 a 4 años a 10 años.

Los estudios seroepidemiológicos han demostrado que la proporción de seropositivos aumenta con la edad y que de un 80 a un 85 % de las mujeres en edad fértil son inmunes.

La muerte atribuida a esta patología no es común.

El uso de las vacunas en los diferentes países ha reducido grandemente esta patología y el síndrome de rubéola congénita.

En Cuba, desde 1982 a 1987, se aplicaron tres estrategias para eliminar a corto plazo la rubéola como enfermedad y el síndrome de rubéola congénita.

En el año 1987, se vacunaron todos los niños en las edades de 1 a 14 años y, en 1988, se creó el Programa de eliminación del sarampión, con el apoyo de OPS, pero al cursar estas dos enfermedades con fiebre y *rash* y estando los dos virus incluidos en la misma vacuna, se ha decidido iniciar la eliminación tanto del sarampión como de la rubéola.

Como resultado de las estrategias establecidas durante estos años, en Cuba se eliminó el síndrome de rubéola congénita un año después de implantado el programa de eliminación y tardó 7 años en eliminar la rubéola como enfermedad. Reportándose el último caso, en 1995.

TRATAMIENTO

Muchos casos de rubéola cursan de forma subclínica y no requieren de tratamiento específico. Las complicaciones, si es que ocurren, se tratarán de forma sintomática.

Se plantea el uso de gammaglobulinas específicas que pueden modificar el curso de la enfermedad o prevenir la rubéola en mujeres embarazadas en contacto con personas infectadas, pero su uso es limitado.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Como la rubéola postnatal es una enfermedad benigna, la vacunación tiene por objeto prevenir la rubéola congénita, por lo que el programa de vacunación va dirigido a todos los niños de 1 año y a las mujeres en edad fértil.

Diferentes vacunas atenuadas se comercializan solas o en combinación con la del sarampión y la de la parotiditis. Estas son bien toleradas y provocan pocas reacciones adversas.

El embarazo es una contraindicación absoluta y se debe evitar estar embarazada por lo menos 1 mes después de la vacunación.

La vacuna induce una inmunidad de un 95 % desarrollándose los anticuerpos entre los días 10 y 28 de aplicada esta.

Los anticuerpos vacunales persisten por lo menos 20 años después de la vacunación.

Para eliminar esta enfermedad y el SRC, se hace necesario inmunizar a las mujeres en edad fértil y mantener una alta cobertura vacunal de más de un 95 %.

El hecho de que esta patología sea de transmisión exclusivamente interhumana, que haya un solo serotipo y que la inmunización sea eficaz, hace pensar en la posible erradicación de la enfermedad en las colectividades donde se utilice esta vacuna.

RESUMEN

Dentro de la familia *Paramixoviridae* se agrupan los virus sincitial respiratorio, parainfluenzavirus, el virus del sarampión, de la parotiditis y otros virus que afectan a los animales.

Son virus ARN de polaridad negativa, de simple cadena, no segmentados, envueltos, que presentan proteínas que hacen proyecciones en su superficie, las cuales permiten la unión con el receptor celular. Teniendo como puerta de entrada a la infección, la mucosa del aparato respiratorio superior.

El virus sincitial respiratorio y los parainfluenzavirus, producen infecciones respiratorias en lactantes, niños pequeños y adultos inmunodeprimidos, relacionándose estrechamente con la aparición de bronquiolitis y neumonías.

El virus del sarampión afecta, fundamentalmente, a los niños entre 5 y 9 años y al adulto joven, produciendo un *rash* morbiliforme, siendo el causante de múltiples complicaciones neurológicas y respiratorias, que con la aplicación del programa de vacunación en los diferentes países, tienden a desaparecer.

La parotiditis es una enfermedad que se caracteriza por el aumento de volumen de las glándulas parótidas y que habitualmente cursa sin producir grandes complicaciones.

El virus de la rubéola, no pertenece a la familia *Paramixoviridae*, ya que lo encontramos formando parte de la familia *Togaviridae*. Es un virus ARN de polaridad positiva, envuelto y de simple cadena. Es una enfermedad exantemática que, generalmente, cursa de manera asintomática, es leve, pero cuando afecta a la mujer en el primer trimestre del embarazo es el causante del síndrome de rubéola congénita.

BIBLIOGRAFÍA

- Bellini M, Rota J, Rota P. Virology of Measles Virus. *J. Inf. Dis* 1994; 170 (Suppl 1): S15-23.
- Bellini W, Rota P, Measles (Rubeola) Virus. *In: Lennette E, Lennette D, Lennette E. Diagnostic procedure for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. Chapter 27. 7th edition. Washington DC. American Public Health Association, 1995:447-53.*
- Bello M, Goyenechea A, Pérez MT, Ruiz N. Estudios serológicos con Antígeno de VSR y Adenovirus. *Bol. Epid. I. N.H. E. M* 1982; 4 (8).
- Bello M, Goyenechea A, Pérez MT, Ruiz N. Resultados obtenidos en monoseros de una población infantil frente a Virus Sincitial Respiratorio y Adenovirus en 1981. *Bol. Epid. I. N.H. E. M* 1982; 4 (4).
- Bello M, Goyenechea A, Pérez MT, Ruiz N. Resultados obtenidos en monoseros de niños menores de 1 año por VRS y Adenovirus en el periodo 1980-1985. *Bol. Epid. I.N.H.E.M.* 1986; 8 (Sup1-6).
- Best J, O'Shea S: Rubella Virus. *In Lennette E, Lennette D, Lennette E. Diagnostic procedure for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. Chapter 27. 7th edition. Washington DC. American Public Health Association, 1995:583-600.*
- Collins PL, Chanock RM and McIntosh K. Parainfluenza Viruses. *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. Virology. Chapter 41. Third Edition. Philadelphia. Lippincott Raven Publishers, 1996:1205-33.*

- Collins PL, McIntosh K and Chanock RM. Respiratory Syncytial Virus. *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. Virology. Chapter 44. Third Edition. Philadelphia. Lippicott Raven Publishers, 1996: 1313-43.*
- Cutts F, Best J, Siqueira M, Engstrom K, Robertson S. Guideline for surveillance of Congenital Rubella Syndrome (CRS) and Rubella. World Health Organization. Department of Vaccines and Other Biologicals. Field Version, May 1999.
- Chacón D, Valdivia, Goyenechea A, Ororpesa S, Savón C. Calsificación en subgrupos de cepas del virus sincitial respiratorio aisladas en un brote en Ciudad Habana. *Rev. Cubana de Medicina Tropical 1996; 48(2):136-37.*
- Gnann J. Mumps Virus. Chapter 35. Chapter 34. *In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. eds. Clinical Virology. New York: Churchill Livingstone, 1997:863.*
- Gómez-Lus R. Paramyxovirus. *En García Rodríguez-JA, Picazo JJ. Microbiología Médica. Tema 34. Mosby. Madrid, 1996:523-38.*
- Goyenechea A, Bello M, Clua A, Savón C, Valdivia A, Orpessa S *et al.* Determinación de anticuerpos fijadores del complemento al virus Sincitial Respiratorio. Estudio longitudinal en población infantil menor de un año. Ciudad Habana. *Rev. Cubana de Medicina Tropical 1994; vol 46 (2).*
- Goyenechea A, Bello M, Savón C, Masa A, Rogés G. Estudio serológico para determinar la circulación de virus respiratorios en Ciudad Habana. *Rev. Cub. Med. Trop. vol. 1992; 44 N.3.*
- Goyenechea A, Razón R, Savón C, Valdivia A, Cancio R. Respiratory Syncytial Virus infection during an outbreak of Acute Respiratory Disease (ARD) in hospitalized infants in Havana. *Rev Men Inst Oswaldo Cruz 1996; vol 91 (4): 489-90.*
- Griffin D, Bellini W Measles Virus. *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. Virology. Chapter 43. Third Edition. Philadelphia. Lippicott Raven Publishers, 1996:267-96.*
- Griffin D, Ward B, Esolen L. Pathogenesis of Measles Virus Infection: An Hypotesis for Altered Immune Response. *J. Infec. Dis, 1994; 170 (Suppl 1) : S24-31.*
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Paramixovirus y virus de la Rubéola. *En: Microbiología Médica. Capítulo 40. 16 ed. México. El Manual Moderno, SA de CV, 1999: 520-22.*
- Kimberlin D. Rubella Virus. *In: Richmand D, Wilthey R, Hayden. Clinical Virology. Chapter 35. New York. Churchill Livingstone Inc., 1997;1257-72.*
- Kleiman M, Leland D. Mumps Virus and Newcastle Disease Virus. *In: Lennette E, Lennette D, Lennette E. Diagnostic procedure for Viral, Rickettsial and Chlamidial Infections. Chapter 27. 7th edition. Washington DC. American Public Health Association, 1995:455-64.*
- Lamb RA, Kolakofsky D. Paramixoviridae: The Viruses and Their Replication. Chapter 40. *In: Fields Knipe BN, Howley DM, Howley PM eds. Virology. Third Edition. Philadelphia. Lippicott: Raven Publishers, 1996:1177.*
- Michael N Oxman Measles. *In Richmand D, Wilthey R, Hayden. Clinical Virology. Chapter 35. New York. Churchill Livingstone Inc., 1997:821-61.*
- Ministerio de Salud Pública. La eliminación de la rubéola en Cuba. La Habana, Cuba, 1999.
- . La eliminación del Sarampión en Cuba. La Habana, Cuba, 1999.
- Piedra PA, Englund JA. Respiratory Syncytial Virus and Parainfluenza Virus. Chapter 34. *In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. eds. Clinical Virology. New York: Churchill Livingstone. 1997: 787.*
- Piedrola A, Maroto V. Togavirus. El virus de la Rubéola. *En García Rodríguez-JA, Picazo JJ, Mosby. Microbiología Médica. Tema 35. Barcelona, 1996:539-44.*
- Programa Ampliado de Inmunización en las Américas. Eliminación del sarampión para el año 2000. *Boletín Informativo del PAI. Año XVI, No. 5. Octubre, 1994.*
- Programa Ampliado de Inmunización en las Américas. Últimas noticias del brote de sarampión en Bolivia. *Boletín Informativo del PAI. Año XXI, No. 4. Octubre, 1999.*
- Ribas MA, Arocha Y, Torañó I, Rodríguez C. Inmunovaloración de anticuerpos IgM en muestras sospechosas de sarampión clínicamente. *Rev. Cub. Med. Trop. 1998;50(2):105-9.*
- Rojo M, Goyenechea A. Bronquiolititis Aguda de lactante por Virus Sincitial Respiratorio. *Rev. Cub. Ped 1966; 38: 747.*
- Sarmiento L, Valdivia A, Chacón D, Savón C, Goyenechea A, Muné M. Aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa para la identificación del virus sincitial respiratorio. *Rev. Cubana de Medicina Tropical 1997; vol 49 (1): 21-23.*
- Savón C, Goyenechea A, González G, Valdivia A, Hernández B, Orpessa S *et al.* Diagnóstico de un brote de Bronquiolititis en la Ciudad de las Tunas por UltramicroELISA. *Rev Enfermedades Infecciosas y Microbiología 1997; vol 17 (4).*
- Savón C, Goyenechea A, Valdivia A, Chacón D, Cancio R, Pérez L, *et al.* Detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal secretions by precentrifugation cell culture immunofluorescent assay using a monoclonal antibody against F protein. *Archive of Medical Research 2000; 31:93-96.*
- Savón C, Laferté J, Goyenechea A, Valdivia A, Morier L, Tejero Y. Normalización de un ensayo ultramicroELISA para la detección de anticuerpos IgG al Virus Sincitial Respiratorio. *Rev Cub Med Tropical 1996; vol 48 (3).*
- Stockton J, Ellis J, Saville M, Clewley J, Zambon M. Multiplex PCR for typing and subtyping Influenza and Respiratory syncytial viruses. *J. Clin Microbiol 1998;36:2990-95.*
- Valdivia A, Chacón D, Sarmiento L, Goyenechea A, González G, Cancio R. Caracterización molecular de cepas aisladas durante un brote de VSR mediante anticuerpos monoclonales y análisis de restricción sobre productos de PCR. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología 1995; 15 (5): 58.*
- Valdivia A, Chacón D, Savón C, Sarmiento L, Valdés O, Otero *et al.* Analysis of Respiratory Syncytial Virus in Clinical Samples by Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. Restriction Mapping. *Rev Men Instituto Oswaldo Cruz 1997; vol 92 (3): 389 93.*

- Valdivia A, Savón C, Chacón D, Sarmiento L, Morier L, Otero. Molecular characterization of an out break of Respiratory Syncytial Virus in Havana City by monoclonal antibodies and restriction mapping (N gene). *Clinical Laboratory Diagnostic Laboratory Immunology* 1997; vol 4(5).
- Weber MW, Mulholland EK, Greenwood EM. Respiratory Syncytial virus infections in tropical and developing countries. *Trop Md Int Healt* 1998; 3(4)268-80.
- Wolinky J, Waxham N. Mumps Virus. *In* Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. *Virology*. Chapter 43. Third Edition. Philadelphia. Lippicott Raven Publishers. 1996:1243-66.
- Wolinky J. Rubella Virus. *In*: Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al. *Virology*. Chapter 43. Third Edition. Philadelphia. Lippicott Raven Publishers. 1996:899-929.



Rabdovirus

Gisset Torres Rojas
María de los A. Ribas Antúnez

INTRODUCCIÓN

La rabia es una zoonosis de etiología vírica, que cuando afecta al hombre, produce una encefalomielitis aguda, siempre mortal, lo que condiciona totalmente el diagnóstico y profilaxis de esta enfermedad. Después de existir referencias del virus de la rabia desde hace más de 4 000 años, no fue hasta 1885 que Pasteur obtuvo la primera vacuna antirrábica. La presencia de miles de casos de rabia humana en el mundo, y la aparición de nuevos reservorios que atacan al hombre, mantienen la vigencia de esta antigua y temida enfermedad.

ESTRUCTURA DEL VIRUS

El virus de la rabia mide 180 nm de diámetro, con 75 nm de ancho, y tiene forma de bala de fusil o proyectil. Su nucleocápside es helicoidal. Posee una envoltura de doble capa lipídica, con espículas en su superficie de 10 nm de longitud, formados por glucoproteínas, de 67 Kda, que constituye el antígeno(Ag) de superficie G. Esta proteína es responsable de la inducción de anticuerpos neutralizantes, siendo capaces de proteger contra la infección letal por el virus.

El núcleo de la partícula vírica tiene forma de hélice y está formado por la molécula de ARN que posee una sola cadena, no segmentada, de polaridad negativa, una nucleoproteína de 55 Kda, una fosfoproteína NS, y la transcriptasa vírica L, de 190 Kda. El genoma de este virus, posee 5 genes de 3' a 5' que se denominan N, NS, M, G y L, los cuales codifican para la nucleoproteína, la fosfoproteína, la proteína de la matriz, la glicoproteína de las espículas, y la transcriptasa, respectivamente.

CLASIFICACIÓN

El virus de la rabia pertenece a la familia *Rhabdoviridae*, género *Lyssavirus*. Este género clásicamente se ha dividido en 4 serotipos, pero el aislamiento de virus en murciélagos insectívoros europeos, ha ampliado la clasificación a 6 serotipos.

Serotipo 1. Virus clásico y cepas vacunales.

Serotipo 2. Lagos bat. (Nigeria).

Serotipo 3. Mokola. (Nigeria).

Serotipo 4. Duvenhage. (África de sur).

Serotipo 5. EBL1 (*European bat lyssavirus*)

Serotipo 6. EBL2.

En esta familia también se encuentra el género *Vesiculovirus*, donde se halla el virus de la estomatitis vesicular.

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

El virus de la rabia es frágil, se inactiva rápidamente por la acidez, el calor (30-56 °C), radiaciones y la desecación. Se conserva en frío (1 mes a 4 °C), con la mezcla a partes iguales de agua y glicerina, y por liofilización. Es sensible a todos los antisépticos del tipo de fenol, alcohol, éter, etc., y a los detergentes derivados del amonio cuaternario.

SUSCEPTIBILIDAD DE LOS ANIMALES

El virus de la rabia afecta a todos los animales de sangre caliente, incluso el humano. La susceptibilidad varía entre las diferentes especies de mamíferos que incluyen: zorros, coyotes, lobos, zorrillos, etc. El virus se distribuye, ampliamente, dentro del animal infectado, en el sistema nervioso, saliva, orina, linfa, leche y sangre.

PROPIEDADES ANTIGÉNICAS

El virus de la rabia, sólo posee un serotipo, pero el empleo de anticuerpos monoclonales contra la nucleoproteína y la glucoproteína, ha permitido caracterizar las diferentes cepas que circulan en perros, zorros, murciélagos, etc. (en diferentes zonas geográficas). Estas variantes también pueden identificarse utilizando la técnica de secuenciación.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

La mordedura o arañazo de un animal rabioso, tiene como consecuencia la presencia de saliva infectada con virus rábico en la musculatura estriada, donde se multiplica en los miocitos hasta lograr una concentración infectante para alcanzar las terminaciones nerviosas sensitivas y las placas neuromusculares motoras, propagándose por los nervios al SNC. El virus se une a través de sus espículas a los receptores de acetilcolina (receptores celulares), penetrando en las fibras nerviosas por endocitosis, donde es decapsidado, comenzando así el proceso de replicación vírica. La polimerasa del virus sintetiza 5 ARNm de cadena complementaria positiva, que darán lugar a las 5 proteínas estructurales anteriormente señaladas (N, L, P, M y G). Uno de los ARNm pasará a ser de polaridad negativa, sirviendo de futuro ARN de la partícula, tras el ensamblaje de la nucleocápside. Este proceso tiene lugar a nivel del citoplasma celular. Finalmente, las partículas adquieren su envoltura por gemación a través de la membrana citoplasmática. La multiplicación en el sistema límbico inicia un movimiento centrífugo del virus, del SNC a los nervios, llegando así a la retina, corteza adrenal, y glándulas salivales, donde va a encontrarse en gran cantidad, en la superficie libre de las células mucosas, y en la saliva.

Además de por mordedura, las personas pueden infectarse por lameduras de animales infectados a heridas o mucosas alteradas de individuos susceptibles, por inhalación de aerosoles en cuevas de murciélagos infectados o trabajando en el laboratorio con material cerebral contaminado. También se ha descrito un caso de rabia, en un receptor de córnea, cuyo donante se encontraba infectado por el virus.

El virus de la rabia produce inclusiones citoplasmáticas eosinófilas, denominada corpúsculos de Negri, que se observan en el citoplasma de las neuronas infectadas, y están llenas de nucleocápsides virales. Estos corpúsculos son más prominentes en las células de Purkinje a nivel del cerebelo. La presencia de estas lesiones es patognómica de la rabia, pero están presentes sólo en un 70 % de los pacientes humanos.

CUADRO CLÍNICO

La enfermedad cursa como una encefalitis aguda fulminante y mortal. El período de incubación es variable, dependiendo de la cantidad de virus inoculado, la virulencia de la cepa, la zona de la mordedura (la proximidad a cara, cuello y columna lo disminuyen), el número de mordeduras, y profundidad, así como la naturaleza del animal lesionador, ya que, por ejemplo el lobo es más peligroso por atacar cabeza y cuello y poseer en su saliva mucha hialuronidasa que favorece la difusión del virus. Se calculan como promedio 45 días, y se han descrito casos extremos de 6 días a 19 años.

En el 80 % de los casos, la rabia humana se presenta de la forma clásica, denominada “furiosa”, sus manifestaciones clínicas se dividen en tres fases: prodrómica, de excitación y coma. El período prodrómico dura de 2 a 10 días, el individuo presenta hormigueos y dolores a lo largo de los troncos nerviosos de la región mordida, con tumefacción dolorosa de la cicatriz, fiebre, malestar general, cefalea, anorexia, y vómitos. Durante la fase siguiente se observa excitación de las esferas sensitivas, sensorial, motora, y psíquica, ante el menor estímulo. Existen signos de excitación simpática: salivación, sudación, dilatación pupilar y lagrimeo. Es típico el espasmo faríngeo, muy doloroso y angustioso ante la presencia de agua, lo cual se traduce como temor al agua o hidrofobia. Esto va seguido por convulsiones las cuales pueden alternar con accesos de furia, agitación y delirio. Finalmente comienza el estado paralítico que en menos de 24 h conduce a la muerte, por afectación de los centros bulbares. En un 20 % de los pacientes la enfermedad cursa con la forma paralítica, sin pasar por los estadios de excitación, apareciendo solamente una parálisis ascendente que llega rápidamente a los centros cardiorrespiratorios. En esta forma, la hidrofobia es poco frecuente, y la sobrevivencia es más larga que en la forma furiosa. La base patogénica de la diferenciación en formas clínicas, no ha sido determinada.

En perros la enfermedad se divide en las mismas tres fases que en el humano con un período de incubación promedio de 10 días con un máximo de 8 semanas.

DIAGNÓSTICO

Se utilizan para el diagnóstico muestras procedentes de: biopsia de piel, células epiteliales corneales, saliva, líquido cefalorraquídeo, y tejido cerebral que constituye la muestra de elección para el diagnóstico *post-mortem*, las astas de Ammon son el mejor sitio para lograr la detección de antígeno rábico, pero se han utilizado con óptimos resultados tejidos proveniente de corteza cerebral, frontal, parietal, cerebelar y tálamo.

DETECCIÓN DE ANTÍGENO RÁBICO Y DE ÁCIDO NUCLEICO

La inmunofluorescencia (IF), es la técnica de elección para la detección de antígeno rábico, tiene alta sensibilidad y permite la obtención de resultados confiables en corto tiempo. La utilización de anticuerpos monoclonales ha aumentado su especificidad. La técnica de inmunoperoxidasa y los sistemas que utilizan avidina-biotina también se han utilizado con buenos resultados.

Desde el punto de vista de análisis histológico, el hallazgo de los corpúsculos de Negri, en encéfalo o médula constituye un diagnóstico definitivo, pero puede estar ausente en hasta un 30 % de casos positivos.

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utiliza para la amplificación de fragmentos de genoma viral, fundamentalmente a partir de tejido cerebral; la posterior secuenciación de estos fragmentos ha posibilitado la caracterización de cepas.

AISLAMIENTO VIRAL

Se ha utilizado para lograr el aislamiento viral, la inoculación en cerebro de ratón lactante, lo cual produce: parálisis flácidas de miembros inferiores, encefalitis y muerte. Sin embargo,

los centros que disponen de laboratorio de cultivo de tejidos, utilizan células de neuroblastoma ($N_2 A$), que son muy susceptibles, y en los cuales se puede identificar el virus aislado entre 2 y 5 días. La identificación se realiza mediante la técnica de IF.

SEROLOGÍA

La detección de anticuerpos a rabia se utiliza, fundamentalmente, para monitoreo de personal de riesgo vacunado, o para la evaluación de gammaglobulina humana. Se emplean las técnicas de seroneutralización en ratones, ensayo de reducción de placas, o más recientemente la técnica de reducción de focos fluorescentes.

INMUNIDAD Y PREVENCIÓN

Los anticuerpos, particularmente aquellos con actividad neutralizante, desempeñan una función importante en la defensa inmune contra los rhabdovirus. La proteína G, que constituye las espículas del virus es la principal responsable de este tipo de respuesta. Se ha observado que la ribonucleoproteína (N, NS, L), induce la generación de células T $CD4^+$ e interferon γ , los cuales tienen también un papel importante en la protección. La función de la respuesta inmune celular citotóxica, que es inducida, fundamentalmente, por la proteína G, no ha sido totalmente aclarada. Hasta el momento sólo se conoce un serotipo antigénico de virus de la rabia, y más del 99 % de las infecciones en humanos que desarrollan síntomas evolucionan a la muerte. Teniendo en cuenta el alto número de casos fatales, y la no existencia de terapéutica causal, la inmunización es la única forma eficaz de prevenir la enfermedad. De acuerdo con la patogenia de la enfermedad, sabemos que si es posible administrar rápidamente las vacunas y los anticuerpos, la replicación del virus disminuye y se puede impedir la invasión del SNC. La utilización de la inmunización pasiva tiene el objetivo de neutralizar una cantidad de virus inoculado, y contar con tiempo extra que permita que la vacunación logre estimular la producción de Acs.

Vacunas más utilizadas:

1. Vacuna de células diploides humanas (HDCV). El virus es adaptado a crecer en cultivo celular (células de fibroblastos humanos normales), y se inactiva con β -propiolactona. No han sido reportadas reacciones adversas, y es eficaz.
2. Vacuna realizada en células de línea continua Vero. La vacuna se elabora en cultivo celular (células derivadas de pulmón de mono *rhesus*). Es segura y eficaz.
3. Vacuna de *Cox y Koprowski*. Se realiza con la cepa Flury; es una vacuna de virus vivo atenuado, adaptado a embriones de pollo. Es utilizada, fundamentalmente, en animales.
4. Vacuna de fuenzalida y palacios. Se obtiene a partir de cerebro de ratón lactante. Se emplea en países subdesarrollados de Asia, África y América, porque es menos costosa. Se han reportado reacciones de sensibilización al tejido nervioso y encefalitis postvacunal.
5. Vacunas de antígenos víricos, fraccionados o recombinantes. Las vacunas recombinantes se han utilizado experimentalmente, por vía oral, con óptimos resultados, en la inmunización de animales domésticos y salvajes.

Existen dos tipos de acciones profilácticas:

1. Profilaxis preexposición. Se realiza a sujetos con riesgo de exposición al virus, como veterinarios, cuidadores de animales, cazadores, espeleólogos, personal de laboratorio etc. así como también a individuos que viajan a zonas hiperendémicas de Asia y África. Se recomienda la utilización de vacuna HDCV en 4 dosis, vía en los días: 0, 7, 28 y al año; con reactivaciones anuales, o dependiendo del nivel de anticuerpos.
2. Profilaxis postexposición (Cuadro 69.1). Se utiliza tras una mordedura o contacto sospechoso. Todas las heridas deben lavarse con abundante agua y jabón. Se recomienda no suturar la herida; y, en caso de ser necesario, debe aplicarse la gammaglobulina como se describe posteriormente. Para la vacunación se prefieren las vacunas de cultivo celular, administrando 1 mL los días 0, 3, 7, y 30; opcionalmente el día 90. Debe utilizarse la gammaglobulina antirrábica de ser posible humana a 20 UI por kg de peso dosis total, la mitad de la dosis alrededor de la lesión, y la otra mitad, en un área corporal diferente a la utilizada para la primera dosis de la vacuna.

Cuadro 69.1. Esquema de tratamiento antirrábico*

Categoría	Naturaleza del contacto	Estado del animal (esté o no vacunado)		Tratamiento recomendado
		En el momento del episodio sospechoso	Durante la observación de 10 días	
I	Contacto sin lesión (lamedura sobre piel intacta) Contacto e indirecto (tocar o alimentar animales) Ningún contacto	Rabioso	-	Ninguno
II	Lamedura sobre piel rasgada Mordisco de piel descubierta Arañazo o erosiones leves sin sangrar Mordedura leve en las partes cubiertas de los brazos, del tronco, y de las piernas	Sospechoso de rabia	Sano	Iniciéase la vacunación Interrúmpase si el animal sigue sano después de la observación de 10 días (a) (c) Si es positivo, adminístrese suero y prosiga el tratamiento con vacuna Adminístrese suero y vacuna
		Rabioso, animal salvaje(d) o no observable	Rabioso	
III	Contaminación de las mucosas con saliva (lamedura) Mordeduras o arañazos transdérmicos múltiples o sencillos en cabeza, cara, cuello y dedos	Animal doméstico o salvaje(b)v sospechoso(d) o rabioso nov observable		Adminístrese suero y vacuna Interrúmpase tratamiento si el animal sigue sano después de la observación De 10 días (a)(c)

* Tomado de la Guía de Recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), para el Tratamiento postexposición de la Rabia, 1997.

(a) El período de observación se aplica sólo a perros y gatos.

(b) En zonas endémicas toda mordedura sin provocación previa se considerará al animal como sospechoso de rabia.

(c) O si la prueba de anticuerpos fluorescentes en el tejido cerebral es negativa.

(d) La exposición a roedores, conejos y liebres rara vez requiere tratamiento antirrábico específico.

La gammaglobulina y la vacuna deben administrarse simultáneamente cuando esté indicado administrar vacuna antitetánica e indicar antimicrobianos para controlar infección sobreañadida.

Las medidas de profilaxis animal: vacunación de animales domésticos, vacunación oral de salvajes, eliminación de perros y gatos callejeros, desmangostización, cuarentena en la importación de animales y vigilancia epidemiológica, son entre otras, medidas primordiales para evitar casos de rabia humana.

EPIDEMIOLOGÍA

La Rabia es una zoonosis de distribución mundial que afecta al hombre de forma accidental. En los animales existen dos formas epidemiológicas: el *tipo salvaje* y el *tipo urbano*. La rabia de los animales salvajes es el principal reservorio del virus, a partir del cual la infección se extiende a otros animales salvajes, y a los domésticos. Los principales reservorios dependen del área geográfica: en Europa son los zorros y los lobos; en América; la mofeta, la mangosta, el zorro y el mapache; en África, la mangosta y el chacal y en Asia, el lobo y el chacal. Otros animales que también constituyen importantes reservorios de la enfermedad son los murciélagos hematófagos o vampiros que muerden y chupan la sangre de bovinos y equinos, durante la noche, transmitiéndoles la rabia. Ha surgido en los últimos años, un nuevo problema epidemiológico, el hallazgo de rabia en murciélagos insectívoros en Europa.

Estos animales han tenido cambios importantes en su comportamiento lo cual ha posibilitado la aproximación al murciélago (principalmente de niños), su captura y posible mordedura.

En la rabia urbana, los animales domésticos son la fundamental fuente de infección, y el perro constituye el 90 % de los casos como principal atacante del hombre, con mayor frecuencia el perro vagabundo e incontrolado. El animal sufre la forma furiosa de la enfermedad, en el curso de la cual puede morder a gran número de personas.

En Cuba, en 1962, se puso en vigor el Programa Nacional de Control de la Rabia el cual fue actualizado en 1980. Con los cambios introducidos en dicho programa se ha logrado brindar una mejor atención a los lesionados, así como se han incrementado la vacunación y saneamiento canino, siendo, a partir de 1982, desplazado el perro como la especie más afectada de rabia, ocupando el lugar de principal reservorio en el país la mangosta.

TRATAMIENTO

El término tratamiento en esta enfermedad se refiere usualmente a la profilaxis postexposición, porque no existe tratamiento satisfactorio contra la rabia clínica. La sedación y las medidas de sostén se usan para prolongar la vida, pero no son capaces de prevenir la inevitabilidad de la muerte.

RESUMEN

La rabia es una enfermedad infecciosa, que es transmitida por el virus de la rabia; aparece en los mamíferos y puede ser transmitida al hombre accidentalmente por la mordedura, arañazo o lamedura de un animal rabioso.

Es una enfermedad mortal, cuyo diagnóstico clínico es difícil, por tanto, siempre se debe realizar con la ayuda del laboratorio. Su período de incubación es largo y esto permite, en muchos casos, prevenir la enfermedad en los pacientes contaminados gracias a la vacunación después de la exposición.

La profilaxis de la rabia humana está dada por la lucha contra la rabia animal, además por la vacunación de las personas profesionalmente expuestas y a los que viajan a zonas enzoóticas.

BIBLIOGRAFÍA

- Baer GM, Lentz TL. Rabies pathogenesis to the central nervous system. *En: Baer GM, ed. The natural history of rabies.* 2ed. Boca Raton: CRC Press Inc., 1991:105-20.
- Bourhy H, Kissi B, Tordo N. Molecular diversity of the lyssavirus genus. *Virology* 1993; 194:70-81.
- Ducastel P, Veyssier P. Rage. *Epidemiologie, prevention. Rev Prat* 1996;46: 1427-32.
- Frizzell R, Whitley R. Encephalitis. *In: Root R, Waldrovel F, Corey L, Stamm W. Clinical Infectious Diseases.* New York Oxford. University Press. 1999:709-14.
- Frizzell RT, Whitley RJ. Encephalitis. *En: Root Rk, Waldvogel F, Corey L, Stamm WE, eds. Clinical Infectious Diseases.* New York: Oxford University Press, 1999:709-14.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. *Microbiología Médica.* 16ed. México: El Manual Moderno, SA de CV; 1999:647-55.
- Kissi B, Tordo N, Bourhy H. Genetic polymorphism in the rabies virus nucleoprotein gene. *Virology* 1995;209:526-37.
- Krebs JW, Strine TW, Smith JS, Rupprecht CE, Childs JE. Rabies surveillance in the United States during 1994. *J AM Vet Med Assoc* 1995; 207: 1562-75.
- Kristenson K, Dasturn D, Mangham D, Tsiang H, Bentiroglio M. Rabies: Interactions between neurons and viruses. A review of history of Negri inclusion bodies. *Neuropathol Appl. Neurobiol.* 1996; 22:179-87.
- Nadin Davis SA, Casey GA, Wandeler AL. A molecular epidemiological study of rabies in central Ontario and western Quebec. *J Gen Virol* 1994;75:2575-83.
- Nicholson KG. Cell culture vaccines for human use: general considerations. *En: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H, eds. Laboratory techniques in rabies.* 4ta ed. Geneva: WHO, 1996: 269-76.
- Rupprecht CE, Hanlon CA, Niezgodna M, Buchanan JR, Diehl D, Koprowski H. Recombinant rabies vaccines: efficacy assesment in free-ranging animals. *Onderstepoort J Vet Res* 1993;60:463-8.
- Rupprecht CE, Smith JS, Fekadu M, Childs JE. The ascension of wildlife rabies a cause for public concern or intervention. *Emerg Infect Dis* 1995; 1: 107-14.
- Rupprecht CE. International meeting on research advances and rabies control in the America. *Emerg Infect Dis* 1996;2: 243.

A graphic featuring a light-colored, textured oval shape. Inside the oval, the word "Capítulo" is written in a dark red, serif font at the top, and the number "70" is written in a larger, dark red, serif font below it. A thin, dark red horizontal line extends from the right side of the oval across the page.

Retrovirus

Sonia Resik Aguirre

INTRODUCCIÓN

El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC de Atlanta, Georgia, EUA), en junio de 1981, reportó un brote inusitado de neumonía por *Pneumocystis carinii* en una población de varones homosexuales, que puso en alerta a todo el mundo con lo que parecía ser una nueva situación de inmunodepresión. Esto fue seguido de otros reportes informando brotes de esta misma enfermedad, así como de sarcoma de Kaposi, de candidiasis oral y otros estados asociados a inmunodeficiencias, con una disminución de la respuesta de las células T a mitógenos y a antígenos. Este es el comienzo de la epidemia del SIDA.

El grupo de Luc Montagnier en el año 1983, y luego Robert Gallo y Jay Levy, en 1984 aislaron de forma independiente un retrovirus linfotrópico de células T. Ellos estudiaron los genomas de los tres aislamientos, que si bien presentaban ciertas diferencias, eran variantes de un mismo virus, cuya asociación etiológica al SIDA se demostró posteriormente por seroepidemiología.

En 1986 el Comité Internacional para la Taxonomía de Virus llegó al acuerdo de denominar este nuevo virus como *Virus de la Inmunodeficiencia Humana* y en este mismo año fue aislado a partir de pacientes del oeste de África un nuevo retrovirus que causaba síntomas similares a los descritos en el SIDA, llegándose a la conclusión de que se trataba de un nuevo tipo, por lo que a partir de este momento se renombraron como VIH-1 y VIH-2 los agentes causantes del SIDA.

CLASIFICACIÓN

El VIH pertenece a la familia *Retroviridae*, en la cual se incluyen virus que presentan en su genoma ácido ribonucleico (ARN), comprendiendo, a su vez, tres subfamilias: *Oncovirinae* (virus cuyo efecto citopático (ECP) es la transformación e inmortalización celular), *Spumavirinae* (virus que producen degeneración espumosa en las células en cultivo) y *Lentivirinae* (virus que promueven la formación de sincitios y la citólisis de las células del cultivo). El ECP del VIH, es similar al que producen los virus que se encuentran dentro de esta última subfamilia, lo que hace que se incluya a este en la misma.

Los retrovirus también suelen clasificarse de acuerdo con la apariencia de las partículas maduras y sus precursores, estableciéndose tipos que difieren en las estructuras internas, las glicoproteínas (gp) de superficie y el sitio de ensamblaje de la cápside. Los tipos de partículas son cuatro (A, B, C, D) y el VIH se acerca más a las partículas del tipo C; que se caracterizan por ensamblar su cápside al nivel de la membrana citoplasmática, pero difieren de otros virus de este mismo tipo en el aspecto tubular de esta cápside.

Se ha comprobado que el VIH-1 y el VIH-2 comparten una organización genética común, con un 50 % de homología en la secuencia nucleotídica. Las diferencias entre estos virus que permite considerarlos dos tipos diferentes son la escasa reactividad cruzada que solo se limita al antígeno de la cápside, los pesos moleculares de proteínas homólogas y la historia natural de la infección, que en el caso del VIH-2 muestra una fase de latencia de mayor duración.

ESTRUCTURA

El virus al microscopio electrónico se observa como una partícula icosaédrica, con un diámetro entre 80 y 110 nm. En su estructura (Fig. 70.1), se definen tres capas: la interna o nucleoide, de forma cónica, formada por la proteína p24, la que contiene dos hebras idénticas de ARN unicatenario asociado por interacciones no covalentes a la nucleoproteína p7; así como las enzimas transcriptasa inversa, proteasa y la integrasa/endonucleasa. La segunda capa está integrada por una cápside icosaédrica formada por la proteína p17 y la capa más externa, compuesta por la envoltura, derivada de la membrana citoplasmática de la célula hospedera. En la misma se encuentran insertadas las gp virales gp120 y gp41 y otras proteínas celulares como β -2 microglobulina y las moléculas del Sistema Mayor de Histocompatibilidad, clase I y II.

Pueden identificarse dos tipos de partículas virales: el virus inmaduro formado por partículas que tienen una zona nuclear de forma circular, presentando un diámetro aproximado de 140 nm y en las que se observan proyecciones en parte de su superficie y el virus maduro, constituido por partículas más pequeñas de 100 a 125 nm de diámetro, con un núcleo cónico y con pérdida de la mayoría de las proyecciones de superficie.

El genoma del VIH está constituido por dos hebras positivas de ARN, a partir de las que se forma el ácido desoxirribonucleico (ADN) proviral, con una longitud aproximada de 9,7 kilobases (kb). Como otros retrovirus más simples, posee dos secuencias invertidas repetidas (LTR) en los extremos, diferenciándose de estos, por la mayor variedad de genes que presentan (Cuadro. 70.1), pudiéndose clasificar los mismos en tres grupos: genes estructurales (*env*, *gag* y *pol*), que darán lugar a proteínas que conforman estructuras concretas del virus; genes reguladores (*tat* y *rev*), que formarán proteínas fundamentales para la vida del virus y genes accesorios (*vif*, *vpr*, *nef*, *vpu* solamente en VIH-1 y *vpx* en VIH-2), cuya función no está completamente establecida.

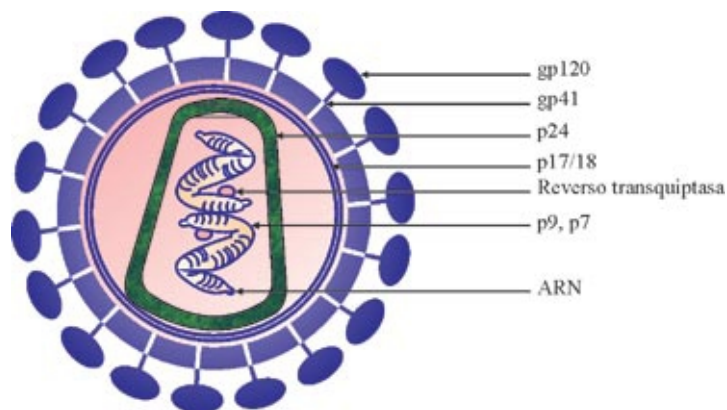


Fig. 70.1. Esquema de la estructura del VIH-1.

Cuadro 70.1. Resumen de los genes y las proteínas del VIH

Gen	Productos génicos	Descripción	Localización
gen <i>env</i> (envoltura)	gp160 gp120 gp41	Precursor de gp de envoltura gp externa de envoltura gp de transmembrana	Virión
gen <i>gag</i> (<i>core</i>)	p55 p24 p17 p15,p9,p7	Precursor de proteínas <i>gag</i> Proteína estructural de la cápside Proteína matrix Proteínas <i>gag</i>	Virión
gen <i>pol</i> (<i>polimerasa</i>)	p66 p51 p31 p15 p11	Reverso transcriptasa Reverso transcriptasa Endonucleasa Proteasa Integrasa	Virión
gen <i>tat</i> (<i>transactivador</i>)	p14	Transactivador de la síntesis del ARN viral	Nucleolo/núcleo
gen <i>rev</i> (<i>regulador</i>)	p19/20	Regula la expresión del ARNm viral	Nucleolo/núcleo
gen <i>vif</i> (<i>factor de infectividad</i>)	p23	Incrementa la infectividad viral	Golgi?
gen <i>vpr</i>	p18	Asiste en la replicación viral	Virión
gen <i>nef</i>	p27	Pleiotrópico, incluyendo supresión del virus	Citoplasma/membrana plasmática
gen <i>vpu</i> (<i>solamente en VIH-1</i>)	p16	Involucrado en la liberación del virus	Membrana
gen <i>vpx</i> (<i>solamente en VIH-2</i>)	p14	Involucrado en la infectividad viral	Virión

VARIABILIDAD GENÉTICA

La variabilidad genética, que produce variaciones antigénicas, ha servido frecuentemente a los virus como vía de escape a la respuesta inmune del hospedero.

Una característica importante de los retrovirus y en particular del VIH, que tiene implicaciones en la patogénesis, diagnóstico, terapia y obtención de un preparado vacunal efectivo, es la variabilidad genética determinada por:

1. La transcripción del genoma de ARN a ADN y de ADN a ARN por dos enzimas que no poseen actividad correctora (transcriptasa inversa y ARN polimerasa II celular), lo que conduce a errores (sustituciones aminoácidas), que son más frecuentes en el gen *env*.
2. La naturaleza diploide del genoma que explica la frecuencia de deleciones de bases, duplicaciones, inversiones o combinaciones de estos, mediante mecanismos de recombinación.
3. La integración del ADN provírico en el ADN celular.

TROPISMO VIRAL

El tropismo celular del VIH se basa en la interacción específica de la *gp* más externa de la envoltura vírica (gp120) con un receptor de membrana (CD4) presente en la superficie de las células diana. La molécula CD4 está en la totalidad de las células T auxiliares y en menor proporción, en la superficie de los monocitos y macrófagos, linfocitos B y células dendríticas de los ganglios linfáticos.

También se ha comprobado la infección activa de las células precursoras de los linfocitos T localizados en la médula ósea, el timo, las células musculares, las gliales, las cromafines del colon, el duodeno, el recto y en los fibroblastos.

La mayoría de estos tipos celulares no expresan CD4 en la superficie, por lo que se sugieren como vías alternativas de entrada los receptores de la región Fc de las inmunoglobulinas como ocurre en el dengue o a través de receptores para el complemento; se cree que estos receptores solo permiten focalizar al virus hacia la célula blanco, pero el mecanismo de entrada sigue siendo por la vía del CD4.

Publicaciones recientes refieren la capacidad del virus de adquirir moléculas de adhesión de las células hospederas. Otro descubrimiento importante que ha sido demostrado, es la necesidad de un correceptor para la entrada del virus a la célula diana y se ha probado que estas moléculas que actúan como correceptores funcionan normalmente como receptores de quimoquinas.

CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS

La supervivencia del virus se reduce por secado en un 90 y 99 % durante muchas horas. Se inactiva de 56 a 60 °C durante 30 min y por medios químicos como el hipoclorito de sodio al 0,5 %, etanol al 70 %, compuestos iodados se inactiva rápidamente. Otra condición que lo inactiva es la exposición a un pH extremo (< 6 o > 10) durante 10 min.

CICLO DE REPLICACIÓN

Muchas de las funciones virales, incluyendo la síntesis de ARN mensajero y proteínas, dependen de la maquinaria celular del hospedero.

El virus, a través de la gp120, se une al receptor CD4 que se encuentra en la superficie de la célula blanco en una interacción caracterizada por una elevada constante de afinidad. La adsorción del virus resulta fundamental para la infección.

Una vez producida esta fase de adhesión, que depende de la gp120 y muy especialmente del anillo V3, se produce un cambio a distancia que afecta a la proteína de transmembrana gp41 en su disposición espacial, proporcionando así la fusión que permite la penetración del contenido viral en la célula.

En una tercera fase se produce la decapsidación viral y el ARN se transcribe a una molécula de ADN por acción de la enzima transcriptasa inversa del virus. Finalmente, la polimerasa celular sintetiza la segunda cadena de ADN y este ADN bicatenario migra al núcleo, donde se inserta en el ADN celular por acción de la integrasa viral.

Una vez en el cromosoma celular, el provirus se replica junto al genoma de la célula hospedera y permanece en estado de latencia hasta que ocurre la transactivación de sus genes. Entre los factores que pueden activarlos están:

1. La activación antigénica de los linfocitos T por infecciones a repetición o por exposición a antígenos alogénicos.
2. Factores tóxicos.
3. Coinfección de una misma célula por un virus con potencial para la mutua transactivación.
4. Otros factores como la infección por más de una cepa de VIH, por parásitos entéricos, malnutrición, uso de drogas y factores genéticos.

La secuencia reguladora de los LTR virales contienen varios sitios de unión de factores transcripcionales de la célula hospedera. Esta característica de compartir secuencias reguladoras con genes importantes en la activación celular hace que los mismos factores que desencadenan la activación funcional de la célula blanco promuevan la activación de la transcripción de los genes virales.

A partir del ADN proviral se sintetizan moléculas del ARN mensajero. Algunas moléculas no son procesadas y constituyen el material hereditario del nuevo virus y otras sufren un proceso de maduración postranscripcional o "*splicing*". La transcripción está regulada por las proteínas virales *Tat* y *Rev*. La proteína *Tat* es un regulador positivo capaz de aumentar en 100 veces los niveles de ARN mensajero viral y *Rev* regula el proceso de "*splicing*".

La acción combinada de ambas proteínas divide el ciclo de vida en dos etapas separadas temporalmente: una temprana donde se sintetizan solamente proteínas reguladoras y la otra tardía donde se elaboran proteínas estructurales y hay formación de partículas virales.

Como paso final ocurre el empaquetamiento del ARN viral y el ensamblaje de viriones inmaduros, con poliproteínas *gag-pol* y precursores no procesados de la cápside. El virus abandona la célula por un mecanismo de gemación y la maduración de las partículas virales se efectúa fuera de la célula.

HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN

Se manifiestan cuatro fases en la infección:

1. Período de ventana. Es el período que transcurre desde la entrada del virus al organismo hasta el comienzo de la siguiente fase. En esta etapa el virus solo puede detectarse por técnicas de biología molecular.
2. Fase precoz o aguda. El virus comienza a replicarse de forma activa y puede desarrollar o no síntomas. La infección se detecta por aislamiento viral o por la presencia del antígeno viral p24 en el suero del paciente. El tiempo que transcurre entre el contagio y la seroconversión varía de 2 semanas a 3 meses, aunque se han reportado casos donde el período se alarga de 7 a 34 meses.
3. Fase intermedia o crónica. Aquí se detectan anticuerpos en el suero, pero no antígenos circulantes. Se caracteriza por el aislamiento viral en un 35 y 70 % de los casos a partir de los linfocitos T de sangre periférica. La fase crónica permanece hasta 10 años en el 50 % de los individuos, quienes al cabo de este tiempo progresan a SIDA. Se sugiere que la pérdida de la arquitectura del tejido linfoide contribuye directamente a la inmunodeficiencia, lo que incrementa la replicación viral y la pérdida del control por el sistema inmune. En el proceso de la enfermedad también influye la producción de un número de mutantes (variantes virales), contra las cuales el sistema inmune no es capaz de responder simultáneamente. Tradicionalmente la idea más aceptada es el hecho de que ocurra una disminución de la población de linfocitos T CD4+ y macrófagos por acción de linfocitos T citotóxicos, o citólisis provocada por el virus.
4. Fase final o de crisis. Se produce una disminución de linfocitos T CD4+, una repositivización del antígeno p24 en el inmunoensayo y un descenso en los niveles de anticuerpos anti-p24.

En los últimos años, el CDC ha propuesto un sistema de clasificación en estadios de la enfermedad (Cuadro 70.2), contemplando aspectos clínico-inmunológicos. Al estar situado un paciente infectado con el VIH, en la categoría C y/o presentar una cifra inferior a 200 CD4+ por mm³, son situaciones indicativas de SIDA o enfermedad avanzada. Los estadios C1, C2, C3, A3 y B3 determinan SIDA.

Cuadro 70.2. Sistema de clasificación en estadios para la infección por VIH

Conteo de célula T CD4+	Categorías clínicas		
	(A) VIH agudo asintomático (primario) o LPG*	(B) Sintomático, condiciones no (A) o (C)	(C) Condiciones indicadoras de SIDA
≥ 500 µl	A1	B1	C1
200-449 µl	A2	B2	C2
< 200 µl conteo de célula T indicador de SIDA	A3	B3	C3

* LPG: Linfadenopatía persistente generalizada.

La disminución del número de células T CD4+ produce disturbios en la homeostasis y en la función de otras células del sistema inmune, lo que contribuye a una destrucción extensiva de este sistema.

INMUNOPATOGENIA

Los mecanismos de patogénesis del VIH-1 no se conocen con exactitud. Hay dos vías propuestas para explicar cómo la infección por el VIH, conlleva a la inmunosupresión y pérdida en el número y la función de las células T CD4+:

1. Citopaticidad directa. La célula hospedera muere debido al aumento de la permeabilidad de su membrana cuando se producen en su interior grandes cantidades del virus y mediante esta vía abandonan la célula. La acumulación de grandes cantidades de ADN no integrado y ARN disperso también ocasionan la muerte celular, al interferir con importantes funciones como, la síntesis proteica de la propia célula. Por otra parte, se plantea que la interacción de la gp120 con el receptor CD4 puede provocar la fusión de membranas celulares internas.
2. Citopaticidad indirecta. La formación de sincitios (células gigantes multinucleadas), por fusión de células infectadas con células sanas CD4+ es un proceso bien conocido *in vitro*. Durante la infección natural no se conoce qué relevancia puede tener. Las células no infectadas, cuyos receptores CD4 se han unido a la gp120 libre, pueden ser víctimas de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (respuesta ADCC). También células no infectadas, que han internalizado y procesado gp120 soluble, y que actúan como células presentadoras de antígenos, son destruidas por células T citotóxicas. Existen una serie de evidencias experimentales que sugieren que reacciones autoinmunes, la inducción de apoptosis o la acción de un superantígeno pueden estar asociados a las pérdidas de las células CD4+.

RESPUESTA INMUNE

Los individuos infectados con el VIH, desarrollan tanto respuesta humoral como respuesta mediada por células contra los antígenos virales. La mayoría de ellos producen anticuerpos neutralizantes. Algunos investigadores en este sentido, han notado una correlación entre la progresión de la enfermedad y un bajo título de anticuerpos neutralizantes en suero.

Las glicoproteínas de la envoltura son las dianas fundamentales para la neutralización y muchos sitios epitópicos en la gp120 han mostrado la capacidad de generar anticuerpos neutralizantes en animales de experimentación. Algunos de estos sitios son regiones hipervariables, e inducen anticuerpos tipo-específicos, mientras que otros son áreas conservadas, e inducen respuestas grupo-específicas.

También es posible que los productos *gag* o *pol* tengan alguna capacidad de inducir anticuerpos neutralizantes, aunque esto debe ser demostrado convincentemente. La reactividad a los productos génicos de *gag* aparecen como marcador de progresión de la infección. Como un marcador de pronóstico la disminución de anticuerpos anti-p24 y la aparición de antígeno p24 circulante frecuentemente, corresponde con la disminución de linfocitos T (CD4+) y están asociadas con la progresión de la disfunción del sistema inmune y el desarrollo del SIDA. Este evento predice consecuencias serias en pocos meses.

La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), dirigida contra las células infectadas con VIH-1 ha sido demostrada por un gran número de investigadores. Tal actividad aparece en fracciones de IgG y está dirigida predominantemente contra los epitopos de gp120 y gp41. La respuesta celular también está dirigida contra los antígenos asociados al VIH-1. Los linfocitos T citotóxicos (LTCs) reaccionan con *env*, *pol*, *gag* y productos génicos de la regulación. La reactividad de los LTC es mediada por el complejo mayor de histocompatibilidad restringido a linfocitos CD3+-CD8+ de sangre periférica. La reactividad de los LTC *env*-específicos es vista en casi todos los individuos infectados, pero esta decrece con la progresión de la enfermedad. La reactividad de *gag* y *pol* parece ser menos constantes.

Las células CD8+ también inhiben la replicación del VIH-1 en células CD4 *in vitro*; al eliminar las células CD8 de cultivos de células mononucleares de sangre periférica, pudieran aumentar la recolección viral. Aún no está claro si la misma población de CD8 es activa tanto en LTC como en la inhibición viral *in vitro*.

La reactividad citotóxica contra la gp120 del VIH-1 también pudiera ser mostrada por células fenotípicamente T no efectora, semejando esto con la actividad de las células asesinas naturales (NK). Esta actividad no es restringida por el antígeno linfocitario humano y puede ser aumentada *in vitro* por la interleuquina 2.

La respuesta al antígeno p24 es mayor que la reportada para el virus entero y se observa más en portadores VIH asintomáticos que en individuos con infección sintomática.

EPIDEMIOLOGÍA

TRANSMISIÓN

A pesar de que el VIH puede aislarse tanto de la sangre como de la mayoría de las secreciones y productos biológicos humanos, se ha demostrado que solo se transmite por relaciones sexuales (homo y heterosexuales), por exposición parenteral a sangre o a sus derivados contaminados, por la transmisión vertical de madre a hijo y a través de órganos infectados, donados para trasplante. No se ha comprobado la transmisión a partir de lágrimas, vectores o contacto casual.

INCIDENCIA

Actualmente, a nivel mundial, existen 20 000 000 de personas infectadas con el VIH. Los grupos y factores de riesgo tienen diferentes patrones de distribución geográfico. En Europa occidental, Estados Unidos y Oceanía, la mayor incidencia es en homosexuales y drogadictos. En Asia, África del norte y zonas del Pacífico los más afectados son las prostitutas y los drogadictos. En África sudsahariana, América Latina y el Caribe, el grupo de mayor riesgo es el heterosexual y es de gran importancia la transmisión perinatal.

SITUACIÓN EN CUBA

En Cuba, la primera persona infectada con el VIH se detectó a finales de 1985. En estos momentos, existen 2 091 casos de seropositivos al VIH y de estos 790 han evolucionado a SIDA. El factor de riesgo más importante es la transmisión sexual, al que corresponde el 98,18 % de los casos reportados. El resto se reparte entre los grupos de transmisión parenteral 0,57 %, transmisión vertical 0,29 %, exposición ocupacional 0,1 % y se encuentran en estudio 0,86 %. En el sexo masculino es donde se reporta el mayor número de casos, 1 561 (74,5 %); respecto a la transmisión sexual de este sexo, el 75 % son homobisexuales, mientras que el contagio por relaciones heterosexuales representa el 25 %. Las edades de mayor incidencia corresponden a grupos entre 18 y 25 años, entre los que se encuentran la mayoría de los casos reportados en el país (datos suministrados por el Centro Nacional de Referencia sobre SIDA, 1998).

EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

Partiendo de los estudios sobre la secuencia del genoma viral, se han determinado las relaciones filogenéticas entre los distintos aislamientos del VIH-1, así como la distribución geográfica de los diferentes subtipos. Se han establecido clasificaciones independientes, de acuerdo con la secuencia de los genes *gag* y *env*, siendo sobre la base de este último (Cuadro 70.3) la más importante para el trabajo de vacunas.

Cuadro 70.3. Clasificación del VIH-1 de acuerdo con la secuencia del gen *env*

Subtipo <i>env</i>	Localización geográfica
A	África Central
B	América y Europa
C	Centro y Sur de África, India y Brasil
D	África Central
E	Tailandia, República Centro Africana
F	Sudamérica, África Central, Europa
G	África Central, Taiwan y Rusia
H	África Central
O	África Occidental, Francia

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR VIH

El diagnóstico de la infección por el VIH se realiza por la demostración de anticuerpos específicos dirigidos frente al VIH, por la demostración de antígenos virales (incluidos los ácidos nucleicos) en los fluidos o tejidos, o bien por cultivo viral.

La detección de anticuerpos específicos a partir de muestras de suero, plasma, sangre en papel de filtro, saliva y orina es utilizada en el control de donaciones de sangre, órganos, semen y óvulos, en el diagnóstico de la infección y en estudios seroepidemiológicos.

Pruebas diagnósticas:

1. Análisis inmunoenzimáticos (EIA).

La detección de anticuerpos anti-VIH con técnicas de EIA es el método más empleado en la actualidad, utilizando como fase sólida el poliestireno. De ellas existen distintos principios en la detección de los anticuerpos (indirecto, competitivo, “sandwich” y captura). Los EIA deben incluir, al menos, las proteínas virales gp41, p24 y gp120, además de gp36 cuando se persigue la detección simultánea de ambos serotipos de VIH. Otros autores han publicado la utilización de la proteína precursora de *gag* (p55) del VIH-1 o de sus productos (p17, p24 y p15) por demostrarse casos no reactivos a p24, pero reactivos a p17 y a p15. Se han desarrollado métodos para la detección de IgM y de IgA.

2. Aglutinación.

Estas pruebas están basadas en la aglutinación de antígenos de VIH, que previamente han sido fijados a partículas susceptibles de aglutinar en presencia de suero que contenga anticuerpos anti-VIH.

Son técnicas de manejo muy sencillo, rápidas, de lectura visual que apenas requieren instrumentación y pueden adaptarse a un gran número de sueros. Su sensibilidad parece comparable con los EIA, pero su especificidad es mucho menor.

3. Pruebas de EIA de membrana (Dot-Blot).

El antígeno está fijado a tiras de nitrocelulosa. Tienen lectura visual, por lo que no requieren de instrumentación, no obstante la principal desventaja de este método reside en la subjetividad, debida a este modo de interpretación.

La aplicación de esta técnica al diagnóstico del VIH ha sido ampliamente publicada; y la existencia de estos ensayos con excelentes cualidades, exige que la producción de nuevos juegos diagnósticos de este tipo, sean sometidos a procesos rigurosos de evaluación.

4. Pruebas fluorimétricas.

Los antígenos específicos están ligados a micropartículas y el indicador de la reacción es un fluorocromo que actúa como sustrato.

Pruebas de confirmación:

Tienen como objetivo confirmar los resultados obtenidos por las pruebas diagnósticas.

5. Western Blot.

Es una de las más utilizadas para confirmar resultados positivos en las pruebas de despistaje de anticuerpos anti-VIH. Las proteínas virales se transfieren a tiras de nitrocelulosa, conteniendo, generalmente, casi todas las proteínas estructurales del virus. Estas tiras se incuban con el suero problema y si este tiene anticuerpos específicos estos se unirán a las proteínas víricas de la tira de nitrocelulosa. La presencia de esos anticuerpos se revela mediante reacciones inmunoenzimáticas.

El resultado es la aparición de bandas coloreadas de mayor o menor intensidad, en el lugar de la tira de nitrocelulosa en el que están situadas las proteínas de VIH, contra las cuales existen anticuerpos en el suero problema. Existen distintos criterios de positividad para el Western Blot, de ellos parece el más adecuado el propuesto por la OMS: un suero es considerado positivo cuando presenta reactividad al menos frente a dos gp de las tres que posee el virus en la envoltura.

Los sueros negativos no deberán mostrar reactividad frente a ninguna proteína de las presentes en la tira. Finalmente, los sueros se denominan indeterminados cuando: existiendo reactividad frente a una o varias proteínas, no cumplen el criterio de positividad adoptado.

6. Inmunofluorescencia indirecta.

La confirmación por esta técnica está basada en la demostración de anticuerpos frente a células infectadas por VIH. Como antígeno se utilizan linfocitos humanos infectados y fijados sobre portaobjetos, y la lectura se efectúa con microscopio de luz ultravioleta. El grado de subjetividad en la lectura y la dificultad en la normalización y control del antígeno utilizado afectan la reproducibilidad de la técnica.

7. Radioinmunoprecipitación.

Consiste en la demostración de anticuerpos anti-VIH en el suero, que en presencia de proteínas víricas marcadas radiactivamente conduce a la formación de inmunocomplejos. Los complejos proteína viral-anticuerpo específico son separados por técnicas electroforéticas según su peso molecular y se ponen en evidencia mediante la impresión del marcaje radiactivo en la placa fotográfica, obteniendo un patrón de bandas similar al del Western Blot

8. Reacción de amplificación genómica por reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

La base de este diagnóstico reside en la demostración de parte del genoma vírico a partir de muestras de sangre periférica. Con la RCP se logra un diagnóstico más rápido y precoz de la infección en situaciones en las que el diagnóstico clásico serológico puede tardar en confirmarse, como es el caso de:

- a) Recién nacidos de madres infectadas o con antecedentes de riesgo de infección durante el embarazo, y en sujetos con períodos de ventana más largo que el habitual.
- b) Demostración de infecciones por VIH-2 con serología no concluyente e infecciones dobles por VIH-1 y VIH-2.
- c) Detección de mutaciones específicas asociadas a la resistencia a los antivíricos empleados en la terapéutica anti-VIH.

Constituye una técnica de alta sensibilidad y especificidad, pero puede dar falsos positivos cuando la muestra utilizada no es la apropiada, o si el número de copias es bajo.

9. Aislamiento viral.

Constituye una técnica de referencia, aunque su empleo queda restringido a laboratorios bien equipados, con complejos sistemas de contención biológica (nivel P 3). Supone el cultivo del virus a partir de muestras clínicas, utilizándose en la mayoría de los casos linfocitos de sangre periférica. La detección del crecimiento vírico se puede realizar midiendo la actividad retrotranscriptasa en los sobrenadantes, por detección de antígenos específicos del virus (p24 principalmente) o bien mediante la demostración del efecto citopático en forma de sincitios o células gigantes formadas por la fusión de células infectadas.

A pesar de que las muestras más comunes para aislamiento son linfocitos de sangre periférica y líquido cefalorraquídeo, el virus ha podido aislarse de un gran número de fluidos humanos entre los que se incluyen el plasma, suero, secreciones cervicales,

semen, saliva, leche materna, lágrimas, orina y líquido alveolar, así como en órganos de trasplante y tejido cerebral.

10. Detección de la carga viral.

El desarrollo de nuevas técnicas moleculares para detectar el genoma del VIH en plasma ha permitido estudiar la dinámica de replicación viral y la patogénesis en detalle. Al menos 10 billones de nuevos virus se producen por día con una vida media en plasma de 6 h. Cuando los linfocitos CD4⁺ están productivamente infectados tienen una vida media de aproximadamente 1,6 días. El conocimiento de este extraordinario nivel de replicación viral conlleva a dramáticos cambios en el manejo clínico del paciente y en particular en el uso de la terapia antirretroviral.

Antes del desarrollo de estas modernas técnicas se utilizó el cultivo cuantitativo de células mononucleares de sangre periférica o de plasma para estimar el título infectivo del VIH en sangre. El aumento del título se asocia con progresión clínica de la enfermedad, mientras que el decrecimiento se acompaña de un tratamiento activo y efectivo con drogas antirretrovirales.

Existen ensayos comerciales disponibles en el mercado para cuantificar carga viral en plasma: bDNA (*branched DNA*), RT-PCR y NASBA (amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos). El bDNA es una técnica que amplifica la señal del ARN viral capturado por pasos secuenciales de hibridación oligonucleótida, mientras que la RT-PCR y el NASBA utilizan métodos enzimáticos para medir la cantidad de ácido nucleico amplificado en la reacción.

VACUNAS

En más de una década de investigación se han desarrollado y evaluado en animales y seres humanos alrededor de dos docenas de candidatos vacunales. No obstante existen serios problemas teóricos y prácticos para lograr la ansiada vacuna.

Una vacuna contra el VIH pudiera prevenir completamente la infección confiriendo un estado de “inmunidad esterilizante”, permitiendo tan solo una infección abortiva sin viremia crónica, o una infección crónica con bajo nivel de viremia, lo cual podría tener un buen pronóstico con relación a la progresión de la enfermedad.

Las estructuras víricas superficiales del VIH, son las que más interesan para obtener una vacuna eficaz. En este sentido, la proteína gp160, y sus componentes gp120 y gp41, serán las que previsiblemente den lugar a una respuesta protectora más eficiente, ya que son las proteínas que reaccionan específicamente con el componente CD4 presente en las células infectadas. Si se consiguiera bloquear estas gp no se produciría la adhesión ni penetración del virus y, por tanto, la infección. La gp120 y especialmente el anillo V3, contienen estructuras variables, lo que hace que la respuesta inmune frente a una estructura no sea protectora frente a la que ha variado.

Entre las estrategias de vacunas que se han propuesto y ensayado a nivel mundial se encuentran:

1. Las vacunas que utilizan virus completo atenuado o muerto.
2. Las vacunas ADN desnudo.
3. Las vacunas recombinantes o de péptidos sintéticos utilizando proteínas de membrana gp160 y gp120.
4. Las vacunas de vectores vivos.

Según el objetivo que se persiga las vacunas pueden clasificarse en:

Profilácticas. Se trata de la vacunación clásica, es decir, la inoculación de la vacuna en una persona sana susceptible.

Terapéuticas. La vacunación se realiza en el individuo ya infectado. El objetivo es el de estabilizar los niveles de CD4 consiguiendo una mejoría del enfermo y por tanto, limitar la progresión de la enfermedad.

Interrupción de la transmisión vertical. Conviene recordar que se infectan aproxima-

mente entre un 15 y un 30 % de los recién nacidos de madres infectadas (aproximadamente la mitad de ellos durante la gestación y la otra durante el parto o a través de la leche materna).

En el caso del SIDA, se conoce relativamente poco acerca de la respuesta inmune que puede proteger contra el virus, ya que no existe un estado de convalecencia. El crear una vacuna contra este virus no es sencillo. Diferentes obstáculos impiden su desarrollo como es: la ausencia de vacunas precedentes contra retrovirus, el largo período de latencia, la alta variabilidad de las proteínas de la estructura, el desconocimiento de los indicadores de protección y la falta de un modelo animal adecuado.

ESTRATEGIA CUBANA PARA LA PRODUCCIÓN DE UNA VACUNA PREVENTIVA

Cuba ha estado trabajando en la obtención de un inmunógeno capaz de prevenir la infección por el VIH. El trabajo ha sido encaminado en tres variantes fundamentales de vacunas: péptidos sintéticos, proteínas recombinantes y vacunas de ADN desnudo. Una primera vacuna producida con la tecnología de péptidos sintéticos fue probada en humanos en el año 1998, en estudios de Fase I, constituyendo Cuba el cuarto país del mundo que realiza estudios de este tipo. La vacuna consistió en un polipéptido multiepitópico que contenía regiones V3 de la gp120 de varios aislamientos diferentes del virus. Aunque algo reactogénico, el preparado fue capaz de inducir respuesta de anticuerpos y respuesta linfoproliferativa en el grupo de individuos sanos vacunados.

TERAPÉUTICA

Se están realizando avances importantes en el bloqueo de todas las fases de replicación del virus. Los agentes bloqueadores tienen un alto valor terapéutico en el caso del VIH, a diferencia de otros retrovirus. En dependencia del estadio del ciclo replicativo que bloquean, los inhibidores se dividen en:

1. Inhibidores de la adsorción. Polisulfatos, polisulfonatos y policarboxilatos.
2. Inhibidores de la fusión. Lectinas de plantas.
3. Inhibidores de la desencapsidación. Análogos del biciclám.
4. Inhibidores de la transcriptasa inversa. Análogos de dideoxynucleótidos y los no nucleósidos.
5. Inhibidores de la transcripción. Oligodeoxynucleótidos antisentido y antagonistas del gen *tat*.
6. Inhibidores de la traducción. Oligodeoxynucleótidos antisentido y ribozimas.

En la actualidad se recomienda el uso de una terapia combinada que persigue evitar o retrasar los fenómenos de resistencia, conseguir un efecto sinérgico entre las distintas drogas empleadas y reducir los efectos adversos de estos medicamentos al conseguir la disminución de las dosis empleadas. Entre las combinaciones más utilizadas están: AZT/DDC/Nevirapina, AZT/DDI/DDC y Ritonavir/Indinavir/ Nevirapina entre otras. Con el uso de estas triterapias se ha conseguido reducir la carga viral al mínimo en un gran número de pacientes y mejorar así la calidad de vida.

RESUMEN

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) pertenece a la familia *Retroviridae*, género *Lentivirus* y es el agente causal del síndrome de inmunodeficiencia humana. Se han descrito dos tipos fundamentales, el 1 y el 2 y una gran variedad de genotipos. Es un virus envuelto con un RNA diploide de simple cadena, que contiene en su superficie glicoproteínas que cumplen función antigénica. Infecta numerosas estirpes celulares, fundamentalmente aquellas que expresan en su superficie el receptor CD4. Como su blanco de acción fundamental es el sistema inmune es capaz de producir una marcada inmunodeficiencia celular en

los individuos infectados, conllevando a la aparición de numerosas infecciones oportunistas y tumoraciones malignas que dan al traste con la vida del paciente. La enfermedad evoluciona irremediablemente a la muerte en un período de aproximadamente 10 años. Hasta el momento no se cuenta con una vacuna efectiva capaz de prevenir la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Alan R, Lifson J, George W. The natural history of HIV infection. *J Infect Dis* 1988;158: 1360-67.
- Ameisen JC, Capron A. Cell dysfunction and depletion in AIDS: the programmed cell death hypothesis. *Immunol Today* 1991; 12: 102-5.
- Bachmann P, Beyer J, Brust S, Engelhardt W, Gurtler LG, Habermehl KO, *et al.* Multicentre study for diagnostic evaluation of an assay for simultaneous detection of antibodies to HIV-1, HIV-2 and HIV-1 subtype O (HIV-O). *Infection* 1995; 23: 322-23.
- Barré-Sinoussi F, Chermans JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for AIDS. *Science* 1983; 220: 868-70.
- Bartlett JG. Guía para la atención médica de pacientes con infección por VIH. Wawerly Hispánica S.A., Buenos Aires, 1995.
- Beristain CN, Rojkin LF, Lorenzo LE. Evaluation of a dipstick method for the detection of HIV infection. *J Clin Lab Anal* 1995; 9: 347-50.
- Berrios DC, Avins AL, Haynes-Sanstad K, Eversley R, Woods WJ. Screening for HIV antibody in urine. *Arch Pathol Lab Med* 1995; 119: 139-41.
- Bradley DP. Reverse Transcriptase Fidelity and HIV variation. *Science* 1997; 275: 228.
- Cagnon L, Cucchiari M, Lefebvre JC and Doglio A. Protection of T-cell line from HIV replication by the stable expression of a short antisense RNA sequence carried by a shuttle RNA molecule. *J of AIDS Hum Retrovirol* 1995; 9: 349-58.
- Carlson JR, Yee JL, Watson-Williams EJ. Rapid, easy and economical screening test for antibodies to HIV. *Lancet* 1987; ii: 361-62.
- Casareale D, Fiala M, Chang CM, Cone LA, Mocarski ES. CMV enhances lysis of HIV-infected T-lymphocytes. *Int J Cancer* 1989; 44: 124-30.
- Chargui J, Dye D, Bomberg J. The humanised severe combined immunodeficient mouse as a model for primary human humoral response against HIV-1 peptides. *J of Immunol Methods* 1995; 181: 91-100.
- Cheyrier R, Henrichswark S, Hadida F, Pelletier E, Oksenhendler E, Autran B, *et al.* Clonal expansion of T-cells and HIV genotypes in micro dissected splenic white pulps indicates viral replication "in situ" and infiltration of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes. *Adv Exp Med Biol* 1995; 374: 173-82.
- Clanton DJ, Buckheit RW, Terpening SJ, Kiser R, Mongelli N, Borgia AL, *et al.* Novel sulfonated and phosphonated analogs of distamycin which inhibit the replication of HIV. *Antiviral Res* 1995; 27: 335-54.
- Clark SJ and Saag MS. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New Engl J Med* 1991; 324: 954-60.
- Coffin JM. Retroviridae and their Replication. *In: Fields BN, Knipe DM, Chanock RM, Hirsch MS, Melnick JL, Monath TP, editors. Virology. Second Edition. New York: Raven Press 1990; t 2: 1452-89.*
- Connor E, Wang Z, Stephens R, Hallard B, Palumbo P, McSherry G, *et al.* Enzyme immunoassay for detection of HIV-specific IgA antibodies. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 681-84.
- Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. Pruebas para la detección del VIH y control de la calidad. Mitchell S y Gringle, editors. Family Healthy Organization publishers, 1991.
- De-Clercq E. Antiviral Therapy for HIV infections. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 200-39.
- Duarte CA. La tercera región variable de la glicoproteína externa del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. Estructura, funciones biológicas e inmunogenicidad. *Biocología Aplicada* 1997; 14:1-22.
- Farnham PG, Gorsky RD, Holtgrave DR, Jones WK, Guinan ME. Counselling and testing for HIV prevention: cost, effects and cost-effectiveness of more rapid screening tests. *Public Health Rep* 1996; 111: 44-53.
- Farzadegan H, Quinn T and Polk BF. Detecting antibodies to HIV in dried blood on filter paper. *J Infect Dis* 1987; 155: 1073-74.
- Fauci AS, Schnittman S, Poli G, Koenig S and Pantaleo G. Immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection *Am Intern Med* 1991, 114: 678-93.
- Fauci AS. Immunopathogenesis of HIV infection. *J AIDS* 1993; 6: 655-62.
- French R, Stewart GJ, Penny R, Levy JA. How HIV produces immune deficiency. *Med J Aust* 1996; 164: 166-71.
- Franis DP, Harold WJ, Patricia NF, Getchell JP, McDougal JS, Feorino PM. The natural history of infection with the HTLV-III. *Ann Intern Med* 1985; 103: 719-26.
- Fulii G, Horvath S, Woodward S, Eiserling F, Eisenberg D. A molecular model for membrane fusion based on solution studies of an amphiphilic peptide from HIV gp 41. *Protein Science* 1992; 1:1454-64.
- Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, Shearer GM, Kapln M, Haynes BF, *et al.* Frequent detection and isolation of cytopathic retrovirus (HTLV-III) from patients with AIDS and risk for AIDS. *Science* 1984; 244: 500-03.
- Gelderblom H. Assembly and morphology of HIV: potential effects of structures on viral functions. *AIDS* 1991; 5:617-38.
- Gibson KM, Clewley JP. Detection of HIV-1 in serum, using (RT-PCR). *J Virol Methods* 1993;43:1-36.
- Gnann JW, McCormick JB, Mitchell S, Nelson JA and Oldstone MBA. Synthetic peptide immunoassay distinguishes HIV type 1 and HIV type 2 infectious. *Science* 1987; 237: 1346-49.

- Golding H, Shearer GM, Hillman K, Lucas P, Manischewitz J, Zajar RA. Common epitope in human immunodeficiency capable of contributing to immune dysfunction in HIV-1 infected individuals. *J Clin Invest* 1989; 83: 1430-35.
- Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men. *N Engl J Med* 1981; 305: 1425-31.
- Granade TC, Phillips SK, Parekh B, Pau CP, George JR. Oral fluid as a specimen for detection and confirmation of antibodies to HIV type 1. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 395-99.
- Granade TC, Phillips SK, Parekh B, Pau CP, George JR. Oral fluid as a specimen for detection and confirmation of antibodies to HIV type 1. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 395-99.
- Groopman JE, Benz PM, Ferriani R, Mayer K, Allan JD, Weymouth LA. Characterization of serum neutralization response to the human immunodeficiency virus (HIV). *AIDS Res Hum Retroviruses* 1987; 3: 71-85.
- Hampel H, Kapprell HP, Sawitzky D, Wilske W and Gurtler L. Detection of specific HIV virus IgM antibodies. *Med Microbiol Immunol Berl* 1995; 184: 69-71.
- Harrison SC, Skehel JJ and Wiley DC. Virus Structure. *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, editors. Virology. Third Edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996; t 1: 93-95.*
- Hawkes R, Niday E and Gordon J. A dot-immunobinding assay for monoclonal and other antibodies. *Anal Biochem*, 1982; 119: 142-47.
- Hirsch MS and Curran J. Human Immunodeficiency Virus *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, editors. Virology. Third Edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996; t 2: 1953.*
- Ho D. Advances Painted in Shades of Gray at a D.C. Conference. *Science* 1997; 275: 615-16.
- Ho DD, Kaplan JC, Rackauskas IE, Gurney ME. Second conserved domain of gp120 is important for HIV infectivity and antibody neutralization. *Science*, 1988; 239: 1021-24.
- Hockley D, Wood R, Jacobs J, Garret A. Electron microscopy of HIV-1. *J Gen Virol*, 1988; 69:2455-69.
- Ivey-Hoyle M, Culp JS, Chaikin M, Hellmig B, Matthews T, Sweet R, *et al.* Envelope glycoproteins from biologically diverse isolates of immunodeficiency viruses have widely different affinities for CD4. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1991; 88: 512-16.
- Jacobovits A, Smith DA, Jacobovits EB, Capon DJ. A discrete element of 3' of human immunodeficiency virus 1(HIV-1) and HIV-2 mRNA initiation site mediates transcriptional activation by and HIV transactivator. *Mol Cell Biol* 1988; 6:2555-61.
- James W and Shamkhani A. RNA enzymes as tools for gene ablation. *Curr Opin Biotechnol* 1995; 6: 44-49.
- Janeway CA, Travers P. Acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *En: Current Biology LTD./Garland publishing Inc., editores. Immunobiology: The immune system in health and disease. USA; 1994. P. 10:27-10:45.*
- Joao HC, De Voese K, Pauwels R, De-Clercq E, Henson GW and Bridger GJ. Quantitative structural activity relationship study of bis-tetraazacyclic compounds. A novel series of HIV-1 and HIV-2 inhibitors. *J Med Chem* 1995; 38: 3865-73.
- Koga Y, Sasaki M, Nakamura K, Kimura G and Nomoto K. Intracellular distribution of the envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus and its role in the production of cytopathic effect in CD4+ and CD4- cell lines. *J Virol* 1990; 64: 3661-71.
- Kwok S, Mack DH, Mullis KB, Poies Z, Ehrlich G, Blair D, *et al.* Identification of HIV sequences by using "in vitro" enzymatic amplification and oligomer cleavage detection. *J of Virol* 1987; 61:1690-94.
- Levy JA. HIV pathogenesis and long-term survival. *AIDS* 1993; 7: 1401-10.
- Ljunggren K, Chiodi F, Biberfeld G, Norrby E, Jondal M, Fenyo EM. Lack of cross-reaction in antibody-dependent cellular cytotoxicity between human immunodeficiency virus (HIV) and HIV-related West African strains. *J Immunol* 1988; 140: 602-5.
- Luciw PA. Human Immunodeficiency Viruses and Their Replication. *En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, editores. Fields Virology. Third Edition. Philadelphia:Lippincott-Raven Publishers; 1996; t2:1881-52.*
- Lyerly HK, Matthews TJ, Langlois AJ, Bolognesi DP, Weinhold KJ. Human T-cell lymphotropic virus IIIB glycoprotein (gp120) bound to CD4 determinants on normal lymphocytes and expressed by infected cells serves as target for immune attack. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 4601-5.
- Martínez P, Ortiz de Lejarazu R, Eiros JM, Perlado E, Flores M, del Pozo MA, *et al.* Comparison of two assays for detection of HIV antibodies in saliva. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14: 330-36.
- McMichael A. T Cell Responses and Viral Escape. *Cell* 1998; 93:673-76.
- Mitchell SW, Mongle J, Swambe D, Tukei P, Milenge K, Nyamongo J, *et al.* Field evaluation of alternative HIV testing strategy with a rapid immunobinding assay and an agglutination assay. *Lancet* 1991; 337: 1328-31.
- Murphy FA. Virus Taxonomy. *En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, editores. Fields Virology. Third Edition. Philadelphia:Lippincott-Raven Publishers; 1996; t1:15-57.*
- Myers G, Korber B, Wain-Hobson S, Smith R, Pavlakis GN, editors. *Human Retroviruses and AIDS. A compilation and Analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Theoretical Biology and Biophysics Group T-10; Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, USA, 1994.*
- Nájera R. SIDA, de la biomedicina a la sociedad. EUEMA, S.A, 1990: 33-39.
- Ng VL, Chiang CS, Deboucq C, McGrath MS, Grove TH and Milts J. Reliable confirmation of antibodies to HIV-1 with an ELISA using recombinant antigens derived from the HIV-1 gag, pol and env genes. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 977-82.
- Nowak MA. AIDS pathogenesis: from models to viral dynamics in patients. *J AIDS Hum Retrovirol* 1995; 19 Suppl 1: S1-S5.

- Palfrec RGE and Elliot BE. An ELISA for detergent solubilized Ia glycoproteins using nitrocellulose membrane discs. *J Immunol Methods* 1982; 395-408.
- Pantaleo G, Cohen OJ, Schwartzentruber PJ, Graziosi C, Vaccarezza M and Fauci AS. Pathogenic insights from studies of lymphoid tissue from HIV infected individuals. *J AIDS Hum Retrovirol* 1995; 10 Suppl 1: S6-S14.
- Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of HIV infection. *N Engl J Med* 1993; 328:327-35.
- Paul WE. Reexamining AIDS research. *Science* 1994; 267: 633-36.
- Pauza SD, Galindo JE, Richman DD. Reinfection results in accumulation of unintegrated viral DNA in cytopathic and persistent human immunodeficiency virus type 1 infection of CEM cells. *J Exp Med* 1990; 172: 1035-42.
- Pelchen-Matthews A, Clapham P and Marsh M. Role of CD4 endocytosis in HIV infection. *Journal of Virology* 1995; 69: 8164-68.
- Peterlin M, Luciw P. Molecular Biology of HIV. *AIDS* 1988; 2:S29-S40.
- Picazo JJ, Roca V. Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). *En: Mosby/Doyma Libros S.A., editores. Microbiología Médica. España; 1996; t1:579-1.*
- Pollet DE, Saman EL, Peeters DC, Warmenbol HM. Confirmation and differentiation of antibodies to HIV-1 and 2 with strip-based assay including recombinant antigens and synthetic peptides. *Clin Chemistry* 1991; 37: 1700-7.
- Pumarola T. El Síndrome de la Inmunodeficiencia humana. *Medicine (Quinta Edición): Patología Infecciosa (V)* 1991; (76): 2995-3005.
- Quinn TC, Riggan CH, Kline RL. Rapid latex agglutination assay using recombinant envelope polypeptide for the detection of antibody to the HIV. *JAMA* 1988; 260: 510-13.
- Robert-Guroff M, Brown M, Gallo RC. HTLV-III neutralizing antibodies in patients with AIDS and AIDS-related complex. *Nature* 1985; 316: 72-79.
- Rook AH, Lane HC, Folks T, McCoy S, Alter H, Fauci AS. Sera from HTLV-III/LAV antibody-positive individuals mediate antibody-dependent cellular cytotoxicity against HTLV-III/LAV-infected T cells. *J Immunol* 1987; 138: 1064-67.
- Roseberg ZF, Fauci AS. Immunopathogenesis of HIV infection. *J NIH Res* 1990;2:41-45.
- Saag MS, Holodniy M, Kuritzkes DR, O'Brien WA, Coombs R, Poscher ME, *et al.* HIV viral load markers in clinical practice. *Nature Medicine* 1996;2:625-29.
- Saito A, Morimoto M, Ohara T, Tahamizawa A, Nakataka A and Shinagawa H. Overproduction, purification and diagnostic use of the recombinant HIV-1 gag proteins, the precursor protein p55 and the processed products p17, p24 and p15. *Microbiol-Immunol* 1995; 39: 473-83.
- Sayre KR, Dodd RY, Tegtmeyer G, Layug L, Alexander SS, bush MP. false-positive HIV type 1 western blot tests in noninfected blood donors. *Transfusion* 1995; 36:45-52.
- Sherman MP, dock NL, Ehrlich GD, Sninsky JJ, Brothers C, Gillsdorf J, *et al.* Evaluation of HIV type 1 western blot-indeterminate blood donors for the presence of human or bovine retroviruses. *J AIDS Hum Retrovirol* 1995;11:409-14.
- Silvester C, Healey DS, Cunningham P, Dax EM. Multisite evaluation of four anti-HIV-1/HIV-2 enzyme immunoassays. Australian HIV Test Evaluation Group. *J AIDS Hum Retrovirol* 1995; 8: 411-19.
- Spielberg F, Kabuya CM, Quinn TC. Performance and cost effectiveness of a dual rapid assays system for screening and confirmation of HIV type 1 seropositivity. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 303-6.
- Strathdee SA, Frank JW, McLaughlin J, Leblanc M, Major C, O'Shaughnessy MV, *et al.* Quantitative measures of HIV-specific antibodies predict progression to AIDS. *J Infect Dis* 1995; 172: 1375-79.
- Strickland P, Connolly C. HIV and AIDS. Global Costs and Market Futures. *En: Global Costs and Market Futures. Ed/FT Heal thcare, Maple House, 149 Tottenham Court Road, London W 1P 9LL, 1998.*
- Tanabe TA, Ang-Singh MT, Tsuchie H, Zhang J, Paladin FJ, Kurimura T. A newly developed immunofluorescence assay for simultaneous detection of antibodies to HIV type 1 and type 2. *J Virol Methods* 1995;52:239-46.
- Vercauteren G, Beelaert G, van der Groen G. Evaluation of an agglutination HIV 1+2 antibody assay. *J Virol Methods* 1995; 51: 1-8.
- Volverding PA. HIV quantification: clinical applications. *Lancet* 1996;347:71-72.
- Walker CM, Moody DJ, Stites DP, Levy JA. CD8-lymphocytes can control HIV infection *in vitro* by suppressing virus replication. *Science* 1986; 234: 1563-65.
- Weber GF, Cantor H. HIV glycoprotein as a superantigen. A mechanism of autoimmunity and applications for a vaccination strategy. *Medical Hypotheses* 1993 ; 4: 247-50.
- Weiblen BJ, Lee FK, Cooper ER. Early diagnosis of HIV infection in infants by detection of IgA HIV antibodies. *Lancet* 1990; 335: 988-90.
- Werner A, Levy JA . HIV-1 envelope gp 120 is cleaved after incubation with recombinant soluble CD4. *J Virology* 1993, 67: 2566-74.
- Yoshida T, Matsui T, Kobayashi S, Yamamoto N. Evaluation of passive particle agglutination test for antibody to HIV. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1772-73.
- Zehner R, Bratzke H, Mebs D. Evaluation of a rapid system, HIV-1/ HIV-2 Testpack, Abbot, to detect HIV antibodies in postmortem blood. *J Forensic Sci* 1995; 40: 113-15.



Arenavirus

**Mayra Muné Jiménez
Rosmari Rodríguez Roche**

INTRODUCCIÓN

Los virus pertenecientes a esta familia, son causantes de infecciones crónicas en roedores de Europa, África, América y posiblemente en otros continentes. Los animales infectados asintómicamente invaden los habitats humanos, pudiendo afectar al hombre por contacto con los virus excretados por dichos animales. El mecanismo por el cual estos virus producen infección crónica en roedores y humanos puede ser complejo.

El primer arenavirus aislado fue el virus de la coriomeningitis linfocítica (CML) descubierto en el año 1933, por Lillie y Armstrong, durante el estudio de muestras provenientes de una epidemia de encefalitis de San Luis, el virus de la coriomeningitis linfocítica fue la causa de meningitis asépticas en estos pacientes. Más de 20 años transcurrieron para que fueran identificados otros arenavirus: el virus Junin aislado de pacientes con fiebre hemorrágica Argentina (FHA), en 1957, la fiebre hemorrágica boliviana (FHB, Machupo), en 1964 y la fiebre hemorrágica venezolana (FHV, Guanarito). El virus Lassa aislado en el continente africano en 1969, constituye el único arenavirus patógeno para el hombre en ese continente.

Por la década de los años 60, otros virus semejantes fueron descubiertos los cuales compartían las mismas características morfológicas serológicas y bioquímicas. Algunos de estos virus pueden causar fiebres hemorrágicas severas (Cuadro 71.1) mientras que otros aparentemente no son patógenos para el humano y raramente lo infectan (Cuadro 71.2)

Después del aislamiento del virus tacaribe, en 1956, nuevos arenavirus han sido descubiertos en las Américas incluyendo dos virus letales Guanarito y Sabia, en 1990. El análisis filogenético del ARN viral, así como la serología de estos virus permitió la clasificación de los mismos en complejo tacaribe americano y un complejo denominado del Viejo Mundo.

Los arenavirus se clasifican dentro de la familia *Arenaviridae* (15 miembros) divididos como planteamos anteriormente en dos regiones o grupos geográficos, donde solo seis son patógenos para el hombre.

Cuadro 71.1. Arenavirus patógenos para el hombre

Virus	Distribución geográfica	Enfermedad	Hospedero	Manifestaciones clínicas	Año de aislamiento	Mortabilidad
Coriomeningitis Linfocítica	Europa y América	Coriomeningitis linfocítica (CML)	<i>M. domesticus</i> <i>M. musculos</i>	Meningitis aséptica. Enfermedad severa del SNC (ocasional). Enfermedad febril sin daños neurológicos (más común). Infección congénita: hidrocefalia y coriorretinitis	1933	<1 %
Lassa	Oeste de África	Fiebre Lassa	<i>Mastomys (especies)</i>	Enfermedad sistémica severa con cambios en la permeabilidad vascular y vasoregulación	1969	15 %
Junin	Pampas Argentinas	Fiebre hemorrágica Argentina (FHA)	<i>Calomys musculinus</i>	Similar a Lassa, fiebre hemorrágica viral clásica trombocitopenia, sangramiento y manifestaciones neurológicas más comunes	1958	15-30 %
Machupo	Bolivia	Fiebre hemorrágica boliviana (FHB)	<i>Calomys callosus</i>	Similar a FHA	1963	25 %
Guanarito	Venezuela	Fiebre hemorrágica venezolana	<i>Zygodontomys breviceauda</i> <i>Sigmodon alstoni</i>	Similar a FHA	1990	25 %
Sabia	Brasil	No	Desconocido	Probablemente similar a FHA. Necrosis hepática extensiva en casos no tratados con ribavirin	1990	1/3

Cuadro 71.2. Arenavirus no significativamente patógenos para el hombre

Virus	Distribución geográfica	Hospedero natural	Hallazgos	Año de aislamiento
Tacaribe	Trinidad	Desconocido	Aislado de murciélagos (<i>Artibeus</i>)	1956
Amapari	Brasil	<i>Oryzomys gaeldi</i> , <i>Neacomys guianae</i>	Aparentemente dos reservorios roedores	1964
Parana	Paraguay	<i>Oryzomys buccinatus?</i>	Reservorio no bien establecido buccinatus?	1965
Tamiami	Estados Unidos	<i>Sigmodon hispidus</i>	Se han detectado anticuerpos en el hombre, pero sin producir enfermedad	1963,1965
Pichinde	Colombia	<i>Oryzomys albigularis</i>	Infecciones de laboratorio asintomáticas	1967
Latino	Bolivia	<i>Calomys callosus</i>	No patógeno para el hombre	1965
Flexal	Brasil	<i>Oryzomys?</i>	Dos infecciones de laboratorio con enfermedad	1975
Oliveros	Argentina	<i>Bolomys obscurus</i>	Encontrado durante estudios de campo del virus junin. Aún en estudios	1989
Ippy	República Centroafricana	<i>Arvicanthus?</i>	Designado como arenavirus, en 1985	1970
Mopeia	Mozambique, Zimbawe	<i>Mastomys natalensis</i>	Uno de los arenavirus no Lassa de especies <i>Mastomys</i> en África	1977
Mobala	República centroafricana	<i>Praomys</i>	Similar Mopeia	1981

CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS

PROPIEDADES

Los arenavirus son una familia de virus envueltos, pleomórficos que miden entre 60 y 300 nm, el tamaño promedio es alrededor de 92 nm, contienen un genoma ARN de una sola cadena segmentado, de sentido negativo o de ambos sentidos, rodeado por una envoltura con prolongaciones denominadas peplómeros en forma de raqueta. Dentro de la partícula viral pueden encontrarse de 2 a 10 partículas idénticas a los ribosomas, de alrededor de 20 nm que le dan aspecto arenoso en el microscopio electrónico y de donde se deriva su nombre.

Los arenavirus poseen una composición simple de proteínas estructurales.

Proteína no glicosilada (NP) de 63 a 72kDa, nucleoproteína unida al ARN viral.

Glicoproteínas G1 y G2 de 65 y 38 kDa respectivamente cuya función está asociada a la formación de la membrana del virión. Ambas contienen antígenos responsables de la inducción de anticuerpos neutralizantes.

El ARN genómico consiste de 4 especies.

Segmentos S (22 S) y L (31S). El segmento S codifica para la nucleoproteína (NP) y el precursor de la glicoproteína GP-C.

Segmento L contiene el gen de la proteína L (polimerasa ARNp ARNd) y la proteína Z.

Segmento 28 S ribosomal

Segmento 18 S ribosomal.

Modificaciones postraduccionales del precursor de la glicoproteína (GP-C) conducen a la formación de las proteínas estructurales (GP1 y GP2). La GP1 contiene determinantes que actúan con los receptores virales y la GP2 contiene sitios involucrados en la fusión de la membrana para la penetración del virus a la célula.

Los arenavirus son inactivados por solventes orgánicos (cloroformo, éter, deoxicolato de sodio), igualmente se inactivan a pH ácido (< 5), luz ultravioleta y desinfectantes comunes como el hipoclorito, compuestos de amonio, la inactivación se puede obtener por tratamiento con β propiolactona.

La infectividad viral es estable en muestras de suero mantenidas a temperatura ambiente por varias horas y declina lentamente a los pocos días. Son fácilmente inactivados por calentamiento a 56°C por 30 min.

REPLICACIÓN

La característica distintiva de los virus ARN de cadena negativa es que su genoma no sirve, directamente, como molde para la traducción de proteínas virales, esto ha sido comprobado, ya que los ARN genómicos purificados de los cuales las proteínas virales han sido eliminadas no tienen actividad en cuanto a sistemas de traducción *in vitro*. Los virus de ARN de cadena negativa han trazado sus propias estrategias para poder traducir su información genómica, copian los ARN genómicos virales en moléculas complementarias lo que requiere una ARNp ARNd que solo es codificada por el ARN viral genómico, por lo que estos virus cuando forman sus viriones empaquetan estas replicasas junto a su genoma.

El rango más distintivo de la replicación de arenavirus es la capacidad de producir altos títulos de progenie viral con una perturbación mínima de los procesos célula-hospedero, el ciclo de replicación es lento en comparación con otros virus de cadena negativa, requiriendo de 2 a 3 días para producir niveles máximos de virus. En general, los arenavirus se replican sin un disturbio significativo en la síntesis de macromoléculas célula hospedero y sin producir un efecto citopático, aunque este último se ha reportado en algunas células infectadas.

El rango lento con el cual los arenavirus se replican y su incapacidad para redirigir una porción de la síntesis macromolecular de la célula hospedera hacia la producción de proteínas virales y ácidos nucleicos ha impedido dilucidar algunos detalles moleculares de su reproducción.

Analógicamente, con otros virus ARN envueltos, los procesos de unión a la superficie de la célula hospedera ocurren, probablemente, por una interacción entre una de las glicoproteínas virales de la envoltura y una protuberancia receptora de la membrana celular. La entrada del complejo de ribonucleoproteínas (RNP) dentro del citoplasma puede ocurrir por cualquiera de los siguientes mecanismos involucrando un evento de fusión con la membrana.

Seguido a la unión, una de las glicoproteínas virales puede mediar la fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática facilitando la deposición de la ribonucleoproteína (RNP) dentro del citoplasma de la célula hospedera.

La célula hospedera puede internalizar el virión por fagocitosis durante la cual en el punto mediado por la fusión virus célula, la RNP es depositada dentro del citoplasma.

Una vez dentro de la célula la transcriptasa específica viral (ARNp ARNd) presumiblemente inicia la síntesis de ARN a partir de moldes genómicos de ARN. La estrategia codificadora doble sentido realizada a partir de análisis de secuencia de ARN genómico L y S de arnavirus facilita penetrar dentro del orden secuencial de transcripción de genes y eventos de replicación de ARN.

De forma general los virus ARN de cadena negativa deben catalizar reacciones diferentes durante su ciclo replicativo viral:

1. Síntesis de ARNm subgenómicos a partir del genoma viral.
2. Síntesis de un antígenoma entero de cadena positiva complementaria al genoma de cadena negativa.
3. Síntesis de otros ARNm subgenómicos de cadena negativa usando el molde del ARN genómico.
4. Síntesis de otros ARN m subgenómicos a partir de antígenoma.

Inicialmente, la síntesis de ARN viral complementaria comienza en o cerca del extremo 3' de las especies genómicas de ARN S y L y continúan para transcribir especies de ARNm subgenómicos para proteínas virales N y L respectivamente.

Una vez que la replicación del ARN resulta los modelos de ARN virales S y L complementarios completos están disponibles para la transcripción de especies de ARNm subgenómicos correspondientes a genes de glicoproteínas y genes Z, de esta forma, se completa así el suplemento de proteínas necesarias y componentes de ácidos nucleicos a partir de los cuales los viriones pueden ser ensamblados.

El período latente entre la adsorción y penetración de la RNP viral dentro del citoplasma de la célula hospedera y la aparición de la progenie viral ocurre según datos reportados en un rango de 3 a 8 h en contraste con otros virus que lo hacen en menos tiempo. Se ha demostrado que en el tiempo de producción máxima de virus existe relación entre la temperatura de incubación y la multiplicidad de la infección. Por ejemplo de 35 a 38 °C los títulos máximos de virus son obtenidos al cabo de 36 h postinfección.

La organización en doble sentido de los segmentos genómicos de ARN S y L similares le confieren a los arnavirus un único mecanismo para regular los procesos de transcripción de genes síntesis de ARNm subgenómico, replicación del ARN, así como para la síntesis de copia de ARN S y L completos.

Para cada familia de virus de ARN envuelto que ha sido estudiada hasta ahora las glicoproteínas son solamente necesarias tardíamente en la infección. Presumiblemente, GPC no es tampoco necesaria en la fase inicial de la infección por arnavirus. Tempranamente, en la infección el requerimiento inmediato es por la proteína N y, presumiblemente, por la proteína L. Esto debate el hecho de que la biosíntesis de GPC pueda no ser necesaria hasta que la replicación del ARN haya ocurrido.

La síntesis de un ARNm se obtiene de un intermediario de la replicación de ARN a partir del ARN del virión puede ser una ventaja en la regulación del proceso de infección viral a partir de la síntesis de GPC que puede ocurrir independientemente de la síntesis de ARNm para la proteína N por estar originadas de moldes diferentes. Otras ventajas pueden ser proporcionadas por la segregación (separación) de la síntesis de ARNm de GPC y la síntesis de glicoproteínas virales. Bajo tales condiciones es probable que no puedan ser producidas partículas virales, o sea, se producen virus con infectividad reducida grandemente.

Esto se puede relacionar con la facilidad con la cual el arnavirus induce una infección persistente *in vitro* o en roedores neonatales donde no ha sido conocido. Esto se ha observado en cultivo de células infectados persistentemente que expresan poco o casi ninguna proteína viral y expresan pocas partículas virales infectivas, aunque estén dotadas de una nucleocápside viral. *In vivo* no existen evidencias que indiquen que durante la infección persistente las síntesis de GPC, sea anulada totalmente. Además de esto no es probable que la síntesis reducida de GPC permita al virus esconderse del sistema inmune lo que constituiría otra ventaja potencial para inhibir la síntesis de GPC; ya que se han obtenido datos al menos *in vitro* que Ag de la proteína N han sido encontrados en la superficie de células infectadas. Por tanto, la persistencia de arnavirus *in vivo* es probablemente debida a otros muchos factores.

ANÁLISIS DEL VIRUS

Los arnavirus frecuentemente se cuantifican por el método de placas en células Vero. La formación de placas puede requerir períodos largos de incubación (hasta 7 días) para los miembros del grupo Tacaribe. De manera general, las placas varían en talla y tiempo de aparición.

En monocapas de células no se observa un efecto citopático típico, se caracteriza por un redondeamiento de las células y en casos excepcionales, se observa una total exfoliación del cultivo.

Todos los arnavirus son mantenidos en la naturaleza por infección persistente de un grupo de especies de roedores. Aunque estos hospederos infectados crónicamente pueden no mostrar síntomas, contienen altos títulos de virus y excretan libremente virus infeccioso en sus orinas. Dado que pueden observarse títulos de hasta 10^5 ufp/mL en orina, estas características deben tomarse en cuenta en el manejo de los roedores del laboratorio.

PROPIEDADES ANTIGÉNICAS

Tanto por análisis filogenético del ARN viral como por serología, los arnavirus se dividen en diferentes complejos: el americano, el Tacaribe y del Viejo Mundo (Old World). De manera general, también se dividen en arnavirus conocidos como patógenos humanos y arnavirus no conocidos como patógenos humanos significativos (ver Cuadros 71.1 y 2).

El nivel de variabilidad genética no está bien determinado, aunque es conocido que la frecuencia de mutaciones genéticas no es elevada.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

La patogénesis de la enfermedad por arnavirus parece inducir una replicación inicial en el sitio de infección, el modo más común de infección no está bien dilucidado, aunque se piensa sea a través de la piel (cortaduras o abrasiones por contacto con los fluidos contaminados) seguido del inicio de la infección, todos los arnavirus progresan a infecciones en múltiples órganos, especialmente, del sistema reticuloendotelial.

Los linfonodos hiliares son un sitio importante del crecimiento del virus, así como los pulmones y otros órganos parenquimatosos. Independientemente de la ruta de infección, los macrófagos son identificados como una célula temprana y prominentemente involucrada. Cuando la infección se disemina, otros tipos adicionales de células alcanzan igual prominencia. Se han identificado muchas estructuras epiteliales que contienen antígenos y ácidos nucleicos. Teniendo en cuenta la extensión a diferentes células del cuerpo los cambios patológicos son relativamente sutiles comparada con una franca necrosis pequeña.

La respuesta inmune a arnavirus puede ser protectora, deletoria o ambas. La respuesta celular (hipersensibilidad retardada o DTH y linfocitos T citotóxicos) es medida fácilmente y se cree sean los mecanismos más importantes en la recuperación e inmunopatología.

Los anticuerpos aunque menos prominentemente involucrados son importantes igualmente en la protección.

El balance relativo entre la protección y la patología, así como entre la respuesta celular y humoral está determinado por la cepa viral y el huésped.

DATOS CLÍNICOS

La enfermedad por arenavirus tiene un patrón básico que comienza con fiebre y mialgia, seguido de anormalidades sistémicas y de las células hematopoyéticas. En las fiebres hemorrágicas virales, un periodo de viremia que dura de 1 a 3 semanas está acompañado de un intenso impacto sistémico. Al menos seis arenavirus son causa de enfermedad en humanos virus Lassa, junin, machupo, guanarito, sabia y de la coriomeningitis linfocítica.

Coriomeningitis linfocítica (CML). La fase inicial esta caracterizada por fiebre, mialgia, u otros síntomas tales como postración, dolor de cabeza, fotofobia náuseas, vómitos con leucopenia y trombocitopenia. *Rash*, artralgia y artritis también son reportados, pero no son comunes. Aunque la CML se presenta, generalmente, como una meningitis viral, complicaciones neurológicas más profundas pueden manifestarse en una minoría de los casos. Si se presenta un prodrome febril los signos meníngeos, generalmente, comienzan 10 días más tarde. La enfermedad en el sistema nervioso central se presenta, generalmente, como una meningitis aséptica, aunque en algunos pacientes hospitalizados la encefalitis ha sido diagnosticada en un 5 y un 34 % de los casos documentados. Una total recuperación es, generalmente, usual, aunque pueden ocurrir algunos casos de muerte ocasionalmente. El diagnóstico de laboratorio clínico se realiza básicamente mediante el estudio del líquido cefalorraquídeo mostrando un incremento en las células predominantemente mononucleares. El nivel de proteína está igualmente elevado (50-150 mg %) y el azúcar puede ser bajo alcanzando valores de 20 mg/dL.

Es una enfermedad aguda con meningitis aséptica o una enfermedad sistémica leve parecida a la influenza. Con poca frecuencia se describe como una enfermedad sistémica mortal o grave por encefalomielitis.

De manera general, tiene un periodo de incubación de 18 a 21 días, aunque en algunos casos se aprecian tiempos breves. La forma sistémica leve no se indentifica con facilidad por la clínica del paciente.

Se observa malestar general, debilidad, dolor faríngeo, fiebre y tos. La fiebre puede durar de 3 a 14 días, también puede observarse fotofobia, náuseas, cefalea, leucopenia y trombocitopenia.

Fiebre Lassa. El virus Lassa es sumamente virulento, su periodo de incubación es de alrededor de 10 días en un rango de 5 a 21 días.

Puede afectar casi todos los órganos sistémicos y los síntomas varían según el individuo. Comienza con una fiebre alta y mialgia unidos a postración severa. Pueden observarse manifestaciones gastrointestinales como dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarreas. Son frecuentes el dolor retroeste ARNI y el resfriado.

El sangramiento es observado en menos de 1/3 de los pacientes, pero cuando se presenta es un pronóstico negativo para los pacientes.

Se observan erupciones cutáneas como hemorragia, neumonía y daño a órganos específicos como corazón y riñón.

La fiebre Lassa se considera un problema pediátrico, ya que la enfermedad es más difícil de diagnosticar clínicamente. Las manifestaciones neurológicas no son usualmente dominantes desde el punto de vista clínico, pero están bien descritas las meningitis asépticas, encefalitis y encefalopatías globales producidas por este tipo de virus.

El laboratorio clínico no tiene marcadores establecidos para su diagnóstico. Ejemplo, el conteo de leucocitos puede ser bajo, normal o modestamente elevado y el conteo de plaquetas es, generalmente normal. La albuminuria es común.

Fiebres hemorrágicas de Sudamérica

Fiebre hemorrágica Argentina. La fiebre hemorrágica argentina (FHA) comienza con una fiebre insidiosa y malestar. Cefalea, mialgia, dolor epigástrico y anorexia son síntomas frecuentes. A los 3 y 4 días del comienzo de los síntomas aparece una postración severa,

náuseas y vómitos indicadores tempranos de daño vascular. En algunos casos pueden observarse signos neurológicos y convulsiones.

El laboratorio clínico en este caso resulta de gran ayuda en el diagnóstico.

En la mayoría de los pacientes pueden describirse como manifestaciones tempranas leucopenia, trombocitopenia y proteinuria y pueden ser manifestaciones tempranas de la enfermedad.

Fiebre hemorrágica boliviana y venezolana. Es similar clínicamente a la FHA, dada la relación filogenética del virus machupo con el virus junin. La mortalidad se encuentra en un 25 %. La fiebre hemorrágica venezolana también presenta un espectro clínico similar, la FHA con trombocitopenia, sangramiento y daños neurológicos siendo estos últimos prominentes.

Infección por virus sabia. El virus sabia fue aislado de un caso fatal de fiebre hemorrágica en Sao Paulo Brasil, en 1990. Debido a la amplia necrosis del hígado asociada con la presentación clínica, inicialmente, fue diagnosticada como fiebre amarilla, más tarde demostrándose que el virus pertenecía a la familia de los arenavirus, la fiebre, trombocitopenia y leucopenia son síntomas predominantes igualmente en esta enfermedad.

Infección congénita. La magnitud de la infección fetal en humanos es muy elevada para todos los casos y el impacto del feto es en todos los casos severo. Por ejemplo, la infección con CML en el feto ha sido asociada con muerte fetal e infección neonatal fatal. El virus Lassa también puede causar una elevada mortalidad fetal. Las mujeres embarazadas tienen un elevado riesgo de muerte por fiebre Lassa, FHA y FHB.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Aislamiento viral

La metodología más ampliamente empleada en el diagnóstico de los arenavirus es la inoculación de células Vero con suero o LCR. El antígeno viral puede ser demostrado mediante inmunofluorescencia indirecta, ya que el efecto citopatogénico puede ser ligero o en ocasiones no estar presente. El antígeno puede detectarse dentro de los 3 días posteriores a la inoculación o en muestras de bajo título este puede presentarse hasta 2 semanas después de inoculadas las células. Aunque el aislamiento a partir de suero ha sido ampliamente utilizado, el aislamiento a partir de sangre periférica resulta ligeramente más sensible. La inoculación intracraneal ha sido ampliamente utilizada y en algunos casos puede ser incluso más sensible que el aislamiento en células Vero, pero resulta mucho más peligrosa para el investigador y es mucho más sensible a la contaminación. Los ratones lactantes pueden utilizarse para el aislamiento del virus junin, los hámsters lactantes para el virus machupo y los ratones adultos para CML. Por su parte, para el aislamiento del virus Lassa se emplean ratones adultos.

En casos fatales el vaso constituye una fuente útil para el aislamiento del virus, aunque puede realizarse igualmente a partir de nódulos linfáticos, hígado, riñones y otros órganos; el cerebro constituye una fuente poco útil para el aislamiento aunque puede ser empleada particularmente en casos atípicos.

Detección de antígeno por ELISA

Ha sido empleada a partir de sueros de fase aguda en fiebres hemorrágicas, es una técnica muy prometedora para el diagnóstico de los arenavirus.

Detección del ARN viral

La RT-PCR ha sido aplicada a partir de muestras de sangre periférica de pacientes con fiebre Lassa, demostrando su elevada sensibilidad para la detección del ARN viral de virus Lassa.

Pruebas serológicas

La prueba de neutralización ha sido ampliamente utilizada debido a su elevada especificidad y a la persistencia de estos anticuerpos en el tiempo ha sido la base para los estudios epidemiológicos de la FHA y FHB y en menor grado para la CML. La fijación de complemento fue en un principio la técnica de elección para el diagnóstico, pero ha sido suplida por la técnica de inmunofluorescencia indirecta, debido a que es una técnica trabajosa, de poca sensibilidad y los anticuerpos fijadores de complemento no persisten por más de 1 a 3 años después de la infección.

El diagnóstico se realiza básicamente utilizando la técnica de IFI, ya que los anticuerpos medidos por esta técnica son los primeros que aparecen con frecuencia detectables a los pocos días de hospitalización para el virus Lassa y algunos días después para machupo y junin. La presencia de anticuerpos IgM determinados por esta técnica es un diagnóstico presuntivo de la infección aguda.

Coriomeningitis linfocítica. El diagnóstico es, frecuentemente, sugerido por una historia de contacto con roedores caseros. Durante la fase aguda febril se puede aislar el virus en sangre. La viremia es detectable también en la fase meningítica, pero en este caso, el líquido cefalorraquídeo (LCR) es más productivo.

El aislamiento puede realizarse en ratones, pero el cultivo de células (por ejemplo, células Vero) es menos caro, peligroso y menos propenso a contaminaciones aunque podría ser menos sensible comparado con la inoculación en animales. La reacción en cadena de la polimerasa (RT- RCP) se ha aplicado en muestras de LCR con buenos resultados. Los anticuerpos de tipo IgM son detectados, de manera general, en fase aguda tanto por ELISA como por IFI presentes en el suero y en el LCR. Los anticuerpos neutralizantes aparecen tardíamente después del brote y requieren de métodos definidos para demostrar su importancia en el diagnóstico. La fijación de complemento (FC) es relativamente menos sensible y los anticuerpos fijadores del complemento desaparecen rápidamente. Altos títulos de anticuerpos fijadores de complemento son indicativos de una infección reciente. No obstante, una prueba óptima para la serovigilancia no ha sido aún establecida.

Fiebre Lassa. Puede sospecharse de cualquier paciente febril que regresa de un área endémica de África. El virus Lassa es fácil de aislar en sangre o suero durante la fase febril de la enfermedad hasta los 14 días después del comienzo de los síntomas incluso después de la aparición de los anticuerpos. La viremia es, generalmente, alta en los casos fatales y el virus puede ser detectado en los tejidos de necropsia. El aislamiento en células Vero mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta permite el diagnóstico en 5 y 7 días. La detección de antígenos del virus Lassa se puede realizar mediante la técnica de ELISA de captura a partir de sangre o suero tomadas en la fase aguda de la enfermedad, pero se hace negativa cuando los anticuerpos comienzan a ser detectables. La RT-PCR puede ser útil en la detección de ARN viral. Tanto anticuerpos IgM como IgG pueden detectarse por ELISA e IFI, y FC utilizando células Vero infectadas como sustrato. La interpretación es con frecuencia subjetiva, y pueden existir discrepancias entre los resultados obtenidos entre los diferentes laboratorios. Ambos tipos de anticuerpos IgG e IgM, así como el virus está presente en la sangre de los pacientes. No existe diferencia alguna entre los anticuerpos (tipo o clase), de anticuerpo entre los pacientes que fallecen y los que se recuperan de la enfermedad, pero en su forma severa los pacientes mueren antes de la aparición de los anticuerpos.

Fiebres hemorrágicas sudamericanas. Como sucede con el virus Lassa, los virus junin, machupo, guanarito y sabia son infecciosos por aerosoles y las muestras de roedores deben ser manipuladas con precaución en laboratorios BSL-4. El virus puede ser aislado de sangre o suero durante la fase aguda febril tan temprano como al segundo día de comienzo de la enfermedad hasta 10 y 12 días más tarde, por inoculación en cultivos celulares (Vero, BHK21) o en ratones o hámster lactantes. Se considera el cultivo de células una vía más sencilla y segura cuando se realiza en condiciones BSL-4.

El cocultivo de células de sangre mononuclear periférica en células Vero parece mucho más sensible que la inoculación en ratón lactante o las células Vero, para el aislamiento del virus junin.

Se ha demostrado que estos virus pueden aislarse de muestras de tejidos de necropsia de casos fatales. La detección de antígeno por ELISA de captura ha resultado muy útil en el

diagnóstico, en fase aguda de la enfermedad cuando los anticuerpos no están aun presentes. Frecuentemente, ha sido el primer diagnóstico disponible en pacientes que han fallecido antes de la aparición de los anticuerpos.

El diagnóstico serológico se ha realizado por fijación de complemento y por IFI. La falta de sensibilidad y/o especificidad de ambas pruebas es el mayor problema cuando ellas son empleadas en el diagnóstico. No obstante el ELISA es considerado más útil y práctico para la detección rápida de anticuerpos IgM e IgG. Los anticuerpos detectados por ELISA persisten por más de 30 años en algunos casos. Anticuerpos IgM e IgG a virus guanarito y sabia pueden ser detectados por inmunofluorescencia indirecta y por ELISA.

INMUNIDAD

La respuesta inmune a los arenavirus puede ser protectora o destructiva o las dos. La respuesta celular es fácilmente mediada y parece ser un mecanismo fundamental en la recuperación y la inmunopatología. Los anticuerpos son realmente menos prominentes que en otras enfermedades, pero deben ser importantes en la protección.

La ocurrencia de una respuesta inmune efectiva está muy relacionada con la recuperación clínica del paciente y el cese de la viremia.

En este sentido se ha comprobado que el virus junin deprime las inmunidades humoral y mediada por células. La incapacidad de iniciar esta última se vincula a casos fatales por esta fiebre hemorrágica. Se plantea que de no ser por la depresión la inmunidad humoral inducida regularmente por el virus junin y el virus interrelacionado de machupo, la infección en humanos no sería más que una enfermedad leve.

TRATAMIENTO

Aunque muchos compuestos han mostrado eficacia *in vitro*, solamente la guanosina análogo del ribavirin ha tenido aplicación práctica, no obstante el mecanismo de acción es desconocido. Todos los arenavirus probados han sido inhibidos en cultivo de células utilizando concentraciones similares de ribavirin.

La ribavirina ha sido utilizada principalmente en la fiebre Lassa con un mal pronóstico, también se han obtenido buenos resultados en el tratamiento de FHA y los resultados preliminares en machupo y sabia son promisorios.

Esta droga ha sido considerada para la profilaxis de personas expuestas a fiebres hemorrágicas arenovirales, la dosis no tóxica suele ser de 1,2 g/día vía oral.

Para el caso de las fiebres hemorrágicas las inyecciones intramusculares y las drogas tales como la aspirina que pueden interferir con la coagulación o la función de las plaquetas están contraindicadas. La hidratación no se recomienda debido a la posibilidad de un posible edema pulmonar en el paciente.

La ribavirina ha sido exitosamente utilizada en la fiebre Lassa con una reducción considerable de la mortalidad.

La eficacia de la ribavirina oral para la profilaxis al virus Lassa y otros arenavirus no está bien establecida, así como tampoco la dosis ni la duración en el humano. En animales infectados experimentalmente el tratamiento por períodos de 7 a 10 días solo ha retardado la aparición de los síntomas de la enfermedad, sin embargo, la administración de la droga por períodos más largos no previene para el caso del virus junin la enfermedad del SNC.

La inmunización pasiva con anticuerpos ha sido exitosamente utilizada en modelos animales, pero se necesita gran cantidad de material. La posibilidad de desarrollo de anticuerpos monoclonales con un buena actividad pudiera obviar la necesidad de utilización de plasma.

La inmunización pasiva ha sido utilizada cuidadosamente en humanos y animales de experimentación en el caso del virus junin obteniéndose una reducción de la mortalidad. Para los virus machupo y guanarito se han realizado pocos estudios *in vitro* que sugieren que este tratamiento también podría ser utilizado. En el caso de Lassa, sin embargo, según los estudios realizados en animales se necesitan grandes volúmenes de plasma.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

El determinante fundamental de la ecología de las fiebre hemorrágicas es la ocurrencia de infecciones vitales persistentes en los roedores. Quién se infecta y cuándo, dependerá del comportamiento de la infección persistente en los roedores, y de los patrones ocupacionales y culturales de las poblaciones.

Son primariamente enfermedades rurales y semirurales aunque algunos roedores pueden también establecerse en los habitats del hombre, y por tanto, infectan el ambiente a través de las heces fecales, orina y saliva.

La epidemiología de la enfermedad por arenavirus depende de los patrones de infección en el hospedero reservorio y en los factores que conducen al hombre a un posible contacto con los roedores que excretan el virus en orina y saliva. Cada arenavirus está asociado, generalmente, a un simple hospedero reservorio o dos especies estrechamente relacionadas; solamente se observan dos excepciones el virus Tacaribe y el virus amapari aislado de dos géneros de roedores diferentes en Brasil.

El modo de transmisión de roedores al hombre no está aun bien establecido, el contacto directo del hombre con superficies contaminadas por el virus a través de escoriaciones o heridas en la piel es la forma más importante de transmisión.

La infección crónica de las especies de roedores reservorios del virus se utiliza para mantener la continuidad de la transmisión del virus en la naturaleza; el hombre se considera solo como huésped incidental.

La transmisión persona-persona es rara excepto para el virus Lassa. La infección nosocomial a través de aerosoles ha sido igualmente rara. Los virus Lassa, junin y machupo se piensa sean igualmente transmitidos sexualmente. El virus de Lassa ha sido aislado del semen 6 semanas después de la enfermedad aguda.

La epidemiología de la FHA y FHB está restringida a áreas específicas geográficamente por lo que estas enfermedades no son propensas a confusión con otros tipos de enfermedades agudas, y son corroboradas por métodos de diagnóstico específicos, por ejemplo, la sospecha de FHA es confirmada en al menos el 70 % de los casos con las pruebas de laboratorio específicas.

Casos esporádicos de CML no se pueden diagnosticar de una forma segura pues las manifestaciones clínicas son similares a muchos otros virus y las pruebas de laboratorio no son ampliamente empleadas, de igual forma, sucede con la fiebre Lassa la cual puede confundirse con otras enfermedades infecciosas en África.

Todos los arenavirus son capaces de formar aerosoles infecciosos estables y han sido causa importante de infecciones de laboratorio y muertes. Los patógenos en humanos deben ser manipulados con extremo cuidado y los virus productores de fiebres hemorrágicas virales deben ser trabajados en nivel de riesgo 4 (BSL-4).

El desarrollo de un sistema de control sostenible solo ha podido ser logrado en un pequeño número de instancias.

El desarrollo de vacunas para arenavirus implica muchos problemas inherentes: estos virus han sido asociados con infecciones crónicas, síndromes neurológicos, inmunopatología e infección fetal. Su inmunología es pobremente conocida y el desarrollo de una inmunidad humoral para los arenavirus del viejo mundo es tardía. Las vacunas inactivadas han tenido poco éxito. La posibilidad de reversión del virus a virus salvaje, así como una inadecuada e ineficiente atenuación de estos virus patogénicos hacen del desarrollo de vacunas vivas una difícil estrategia.

Una vacuna viva atenuada contra el virus junin (Candid #1) ha sido desarrollada en Argentina. Candid # 1 fue más atenuada que la cepa experimental XJClone 3 (que había sido testada en trabajadores de alto riesgo de laboratorio y en más de 600 voluntarios con excesiva reactogenicidad, pero aparentemente segura).

Esta vacuna atenuada contra la FHA (junin) fue desarrollada en una línea celular y ha sido evaluada en monos previniendo la enfermedad y muerte en los monos inmunizados sin evidencia de persistencia viral.

Una vacuna contra la fiebre Lassa se ha desarrollado por métodos de biología molecular mediante el clonaje y expresión de la glicoproteína (GPC) en virus vaccinia recombinante, ha sido muy exitosa en la prevención de la enfermedad severa y la muerte en monos retados; la

base de la protección está dada por una respuesta inmune de tipo celular pues dicha vacuna no indujo la formación de anticuerpos neutralizantes en los monos inmunizados.

RESUMEN

Los arenavirus pertenecen a la familia *Arenaviridae*. Son virus ARN de cadena negativa pleomórficos con un diámetro entre 90 y 300 nm; poseen una membrana densa al ME con espículas o proyecciones y un número variable de inclusiones densas. Son virus ARN de cadena negativa, que se encuentran genéticamente relacionados. Los virus pertenecientes a esta familia, son causantes de infecciones crónicas en roedores de Europa, África, América y posiblemente en otros continentes. De manera general, se dividen en arenavirus conocidos como patógenos humanos y arenavirus no conocidos como patógenos humanos. Los animales infectados asintóticamente invaden los habitats humanos, pudiendo afectar al hombre por contacto con los virus excretados por dichos animales. La patogénesis de la enfermedad por arenavirus induce una replicación inicial en el sitio de infección, el modo más común de infección no está bien dilucidado, aunque se piensa sea a través de la piel, todos los arenavirus progresan a infecciones en múltiples órganos especialmente del sistema reticuloendotelial.

Hasta el momento no existe una vacuna eficaz para estos virus, el control de los hospederos roedores constituye la forma más eficaz de prevención de la enfermedad sin duda son considerados un importante problema de salud en regiones de África y América del Sur.

BIBLIOGRAFÍA

- Bishop DH. *Arenaviridae* and their replication. Fields B, Kriple D. *Fields Virology*. New York. Raven Press, 1990.
- Enfermedades virales transmitidas por artrópodos y roedores. Jawetz. E, Melnick J.L, Adelberg E.A, Brooks G.F, Butel J.S, Ornston L.N. *Microbiología Médica*. 15de. Mexico. Manual Moderno 1997.
- Jahrling P. *Arenavirus*. Evans A, Kaslow A. *Varial Infections of Humans*. Epidemiology and Control. Plenum Medical Book Company New York. 1997.
- McCormick JB. *arenaviridae*. Fields B, Kriple D. *Fields Virology*. Volume 1. New York. Raven Press, 1990.
- Peters CJ, Buchmeier M, Rollin PE, Ksiazek TG. *Arenavirus*. Fields B.N, Knipe D.M, Howley P.M. Philadelphia. Lippincot-Raven Publisher, 1996.
- Peters CJ. *Arenavirus*. Richman D, Whittey R.J, Hayden F.G. *Clinical Virology* New York. Chuncill Livingstone Inc, 1997.
- Southern P. *Arenavirus and their Replication*. Fields B.N, Knipe D.M, Howley P.M. Philadelphia. Lippincot-Raven Publisher, 1996.



Filovirus

Maritza Pupo Antúnez

INTRODUCCIÓN

Las descripciones más sensacionalistas narrando sobre pacientes muriendo en salas de hospitales, libros y filmes como *Hot Zone*, *Outbreak*, *The Coming Plague*, *Epidemy* entre otros, además de convertirse en los más vendidos o más taquilleros han abastecido la intensa fascinación del público respecto a los filovirus y, a su vez, han realizado el reto que representa la emergencia y reemergencia de estas enfermedades infecciosas.

La aparición de un brote de fiebre hemorrágica en tres ciudades europeas, Marburg, Franckfurt y Belgrado, en 1967, provocó la muerte de 7 de 31 personas quienes habían estado relacionadas al procesamiento de riñones de monos verdes africanos (*Cercopithecus aethiops*) para la producción de cultivo de células y a personal médico vinculado al tratamiento de estos pacientes.

El virus, aislado a partir de sangre y tejidos de pacientes infectados fue nombrado Marburg como la ciudad donde fue caracterizado.

Hasta 1975 el virus había desaparecido de circulación sin haber podido ser determinada su fuente de origen. En esta fecha se reportan tres casos de Fiebre Hemorrágica por Marburg (FHM) en Johannesburg, Sudáfrica, uno de ellos fatal. El próximo episodio ocurrió en 1980, en Kenya donde se repite, en 1987.

En 1976 ocurre al unísono una epidemia severa en Zaire, y en Sudán, con más de 550 casos y 430 muertes. El virus, aislado de pacientes de ambos países fue nombrado Ebola.

Estos dramáticos episodios son seguidos por un nuevo "silencio" del virus hasta 1989 donde se aísla de nuevo en Reston, Estados Unidos. En esta ocasión causó la muerte en monos importados por un centro veterinario de cuarentena.

CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS

Los filovirus son partículas pleomórficas que aparecen como hebras filamentosas, algunas veces con ramas, en forma de U o configuraciones circulares. Los filovirus conocidos son los virus Marburg y Ebola, constituyen especies serológicas, bioquímicas y genéticamente diferentes. Los cuatro subtipos del virus Ebola (Zaire, Sudán, Reston y Costa de Marfil) comparten algunos epítomos iguales. Ambos virus (Ebola y Marburg) son envueltos constituidos de una cadena negativa de ARN no segmentada y sumamente virulentos por lo

cual son considerados patógenos de un nivel de bioseguridad cuatro por lo que sólo pueden ser manipulados en laboratorios de alta contención. Las características generales de los mismos se muestran en el Cuadro 72.1.

Cuadro 72.1. Características generales de los filovirus

Virus	Características	Transmisión	M. Clínicas	Diagnóstico
Marburg Ebola	Pleomórficos ARN, 65-80 nm Familia <i>Filoviridae</i>	Sangre, orina, secreciones respiratorias y semen	Comienzo súbito, fiebre artralgiás, mialgiás, náuseas, vómitos, diarreas, hemorragia, choque y muerte	Detección de anticuerpos por ensayos inmunoen- zimáticos (ELISA) Radioinmunoensayos Inmunofluorescencia Aislamiento viral en cultivo de tejidos Efecto citopático

La infectividad de los filovirus puede suprimirse por exposición al calor (60 °C durante 30 min) y con el uso de radiaciones gamma y ultravioletas además de solventes lipídicos y desinfectantes, clorados y fenólicos.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

Ambos agentes virales son capaces de producir lesiones en bazo, ganglios linfáticos, riñones y, especialmente, el cerebro. Los cambios vasculares producen hemorragia y trombosis, esplenomegalia y hepatomegalia. Se observan focos de necrosis en el hígado, órganos linfáticos, riñones, testis y ovarios y es más evidente en el parénquima del hígado, el cual junto con el estómago se inunda de sangre.

Los tejidos muestran inclusiones citoplasmáticas al examen histopatológico. Hay hemorragias diseminadas en todo el organismo e indicios de neumonía intersticial y algunas veces pancreáticas. Ocurren edemas generalizados, choque hipovolémico y muerte.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los virus Marburg y Ebola producen una sintomatología similar. El período de incubación oscila entre 2 y 21 días. La enfermedad se caracteriza por fiebre, cefalea, mialgiás, artralgiás, náuseas, faringitis, dolor abdominal y vómitos que progresan hasta ser hemorrágicas. Posterior al quinto día de comienzo de los síntomas aparecen exantema y *rash* maculopapular. Puede ocurrir trombocitopenia, leucopenia, neutrofilia, elevación de las transaminasas con niveles de fosfatasa y bilirrubinas normales. La muerte por choque ocurre usualmente de 6 a 9 días después del comienzo de los síntomas clínicos con fallo multiórgano.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Las infecciones por filovirus deben estar incluidas en el diagnóstico diferencial de enfermedades febriles agudas en personas que han viajado por zonas rurales del África Subsahariana.

El aislamiento primario del virus se logra por inoculación de muestras infectadas en cobayos y cultivo de células. En los cobayos pueden encontrarse grandes cantidades de virus en sangre y se han observado alteraciones en hígado, bazo y ganglios linfáticos.

Se han utilizado más de 20 líneas celulares; se han usado como sustrato para los virus Marburg y Ebola, pero las más ampliamente utilizadas son las células Vero (riñón de mono verde) especialmente el clono E-6.

En la detección de anticuerpos contra los filovirus se utilizan ensayos como la prueba de inmunofluorescencia (IF), los ensayos inmunoenzimáticos (EIA) y radioinmunoensayos (RIE), estos últimos permiten también la cuantificación de anticuerpos específicos.

Se han desarrollado ensayos inmunoenzimáticos (EIE) tipo ELISA para la detección de anticuerpos al virus Ebola. Se han detectado anticuerpos IgM en el suero de humanos infectados con el virus Ebola subtipo Reston. También han sido evaluados ELISAs para la detección de anticuerpos IgG utilizando sueros de animales y humanos sobrevivientes a la infección por virus Ebola, sugiriendo esta prueba como herramienta útil en investigaciones de campo.

La detección directa del virus en muestras clínicas puede realizarse mediante IF, ELISA de detección de Ag inmunohistoquímica y la reacción en cadena de la polimerasa. En la misma medida la microscopia electrónica ha sido de gran utilidad en el diagnóstico de estos agentes.

INMUNIDAD

Las infecciones por filovirus parecen ser inmunosupresoras. No hay evidencias, habitualmente, de respuesta inmunitaria en los casos mortales. La función de los anticuerpos contra los filovirus es pobremente comprendida, pero tiene consecuencias importantes para el diseño de vacunas y la profilaxis pasiva.

TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL

No existe tratamiento específico para los virus Marburg y Ebola. Drogas antivirales como la rivabirina, empleada en el tratamiento de otras fiebres hemorrágicas no han tenido valor clínico.

Un tratamiento empleado en pacientes con FH por Ebola ha sido la utilización de sangre de donantes convalecientes durante la epidemia de Kikwit, 1995: la sangre de estos contenía anticuerpos IgG al virus y no fue detectada la presencia de antígenos en ninguna donación antes de transfundir a los pacientes, de estos uno solo falleció y se obtuvo una tasa de mortalidad significativamente menor. Estos estudios sugieren una mayor evaluación de la terapia inmune pasiva durante nuevos brotes de la enfermedad.

También ha sido utilizado el interferón y aunque se han logrado algunos resultados alentadores no ha sido probada su eficacia. Es por ello, que la ayuda de soporte intensivo es más importante en la prevención del choque, edema cerebral, fallo renal, superinfección bacteriana, etc., que puedan ayudar a la sobrevivencia. Por otra parte, el uso de aisladores para los pacientes, su manejo adecuado y la protección del personal médico y paramédico han sido hasta el momento una de las mejores medidas en la prevención de estas entidades.

Hasta la fecha no existen preparados vacunales para la prevención de estas afecciones, sin embargo, la tecnología molecular está aportando un mayor conocimiento de estos virus y ha logrado, en el caso del virus Marburg, con la inoculación del virus muerto o de una subunidad glicoproteica recombinante del mismo, la prevención en curieles y monos infectados y, posteriormente, retados con el virus, prometiendo una vía de protección para esta enfermedad.

Por otra parte, la obtención de anticuerpos monoclonales recombinantes humanos al virus Ebola utilizando la tecnología de librerías de fagos ha permitido trazar nuevas estrategias para la neutralización del virus y la protección en animales.

EPIDEMIOLOGÍA

El reservorio natural de los filovirus todavía permanece en el misterio, aunque es conocido que las rutas principales de transmisión es de persona a persona a través de la sangre, líquidos corporales y posiblemente orina y secreciones respiratorias. En algunos casos los virus Ebola y Marburg han sido aislados de semen y existen reportes de transmisión sexual.

Se supone o parece ser que los virus son zoonóticos transmitidos a humanos a partir de ciclos de vida progresivos en animales o artrópodos.

El ciclo de vida del virus Ebola permanece en el enigma. Estudios recientes utilizando técnicas moleculares como la RCP inversa han demostrado la presencia de proteínas virales en órganos de roedores. Estos estudios evidencian que pequeños mamíferos terrestres que habitan en zonas periféricas de la selva han estado en contacto con el virus y demuestra la persistencia del mismo en estos animales.

Como ya hemos mencionado, estos agentes fueron introducidos en Europa por monos africanos aunque no se considera que estos animales constituyan los reservorios naturales de estos.

La primera aparición del Marburg ocurrió en 1967, en la ciudad del mismo nombre, Alemania. Brotes similares ocurrieron en Franckfurt y Belgrado. Hasta 1975, no fueron registrados nuevos casos, en esta ocasión en Sudáfrica donde solo se presentaron tres casos. En 1976, en Zaire, se presenta un brote masivo con una mortalidad de un 88 % y casi al unísono en Sudán, en este caso, con una mortalidad del 53 %. El aislamiento del virus de estos brotes epidémicos permitió nombrar al virus con Ebola por el afluente del río Congo del mismo nombre, surgiendo así los subtipos Ebola Zaire y Ebola Sudán, ambos sumamente virulentos.

A finales de 1989 se detectaron infecciones debidas a un filovirus similar al Ebola en monos cinomolgus que se encontraban en Reston, Virginia, Estados Unidos, surgiendo el serotipo Ebola Reston no tan virulento como los anteriores. En 1994, se presentaron tres brotes independientes en Gabón, el cual causó al menos 40 muertes. Este brote fue atribuido al subtipo Zaire ligeramente diferente. En este año, un científico enfermó cuando trabajaba muestras de necropsias en Costa de Marfil y se aisló un nuevo subtipo del virus, el Ebola Costa de Marfil.

En 1995, se presenta un nuevo brote epidémico en esta ocasión en Kikwit República Popular del Congo con una elevada mortalidad (80 %). El agente causal resultó ser el Ebola Zaire.

RESUMEN

Los filovirus son partículas víricas pleomórficas que aparecen como hebras filamentosas, son envueltos y están constituidos por una cadena negativa de ARN no segmentada de 60 a 80 nm.

Son sumamente virulentos por lo cual son considerados altamente patógenos. Los filovirus conocidos son los virus Marburg y Ebola y tienen características serológicas, bioquímicas y genéticas distintas. Los cuatro subtipos del virus Ebola (Zaire, Sudán, Reston y Costa de Marfil) comparten algunos epítomos iguales. Su transmisión puede ocurrir a través de la orina, secreciones respiratorias y sangre. La enfermedad se caracteriza por fiebre, artralgias, mialgias, náuseas, vómitos, diarreas, hemorragias, choque y muerte. El diagnóstico puede realizarse mediante ensayos inmunoenzimáticos (ELISA), radioinmunoensayos, inmunofluorescencia, y cultivo de tejidos.

No existe tratamiento específico para los virus Marburg y Ebola.

La ayuda de soporte intensivo es más importante en la prevención del choque, edema cerebral, fallo renal, superinfección bacteriana, etc., que puedan ayudar a la sobrevivencia.

Hasta la fecha no existen preparados vacunales en la prevención de estas afecciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Beer B, Kurth R, Bukreyev A. Characteristics of Filoviridae: Marburg and Ebola viruses 1999; *Naturwissenschaften* 86(1): 8-17.
- Filovirus. Cap 33 Murphy FA, Kiley MP, Fisher-hoch SP. *In: Fields Virology*, 3^{ra} ed. Fields B N et al (editors). Lippincott-Raven, 1996.
- Jawetz, Melnick y Adelberg *Microbiología Médica* Ed. Capítulo 38, 595-96.
- Khan AS, Snachez A, Pflieger AK. 1998; Filoviral haemorrhagic fevers. *Br Med Bull* 54(3):675-92.
- LL, Khan AS, Peters CJ, Burton DR. Recombinant human monoclonal antibodies to Ebola virus. 1999; *J Infect Dis* 179 Suppl 1:S235-9.
- Ksiazek TG, West CP, Rollin PE, Jharling PB, Peters CJ. ELISA for the detection of antibodies to Ebola viruses. 1999; *J Infect Dis* 179 Suppl 1:S192-8.
- Leroy EM, Baize S, Lu CY, Mc Cormick JB, Georges Aj, Georges-Courbot MC, Lansoud-Soukate J, Fsher-Hoch SP. Diagnosis of Ebola haemorrhagic fever by RT-PCR in an epidemic setting. 2000; *J Med Virol* 60(4):463-7.
- Maruyama T, Rodríguez LL, Jharling PB, Sánchez A, Khan AS, Nichol ST, Peters CJ, Parren PW, Burton DR. 1999. Ebola virus can be effectively neutralized by antibody produced in natural human infection. *J Virol* 73(7):6024-30.
- Streether LA. Ebola virus. 1999; *Br J Biomed Sci* 56(4):280-4.
- Monath TP. Ecology of Marburg and Ebola viruses: speculations and directions for future research. 1999; *J Infect Dis* 179 Suppl 1:S127-38.
- Mupapa K, Massamba M, Kibadi K, Bwaka A, Kipassa M, Colebunders ZR, Muymbe -Tamfum JJ. Treatment of Ebola hemorrhagic fever with blood transfusions from convalescent patients. International Scientific and Technical Committee. 1999; *J Infect Dis* 179 Suppl 1:S18-23.
- Moran JM, Deubel V, Gounon P, Nakoune E, Barriere P, Murri S, Perpete O, Selekon B, Coudrier D, Gautier-Hion A, Colyn M, Volekhov V. Identification of Ebola virus sequences present as RNA or DNA in organs of terrestrial small mammals of the Central African Republic. 1999; *Microbes Infect* 1(14):1193-201.



Flavivirus

Gustavo Kourí Flores
María G. Guzmán Tirado

INTRODUCCIÓN

Los términos virus transmitidos por artrópodos y por roedores se refieren a los factores y condiciones ecológicas que gobiernan la transmisión de un grupo de agentes virales en la naturaleza. La mayoría de estos se incluyen en familias y géneros del sistema universal de clasificación de acuerdo con sus características morfológicas, morfogénicas, físicas, químicas y de replicación, no obstante los términos ecológicos siguen teniendo una considerable utilidad práctica. Existen más de 530 arbovirus y en ellos se incluyen virus pertenecientes a las familias *flaviviridae*, *alfaviridae*, *bunyaviridae*, *arenaviridae*, *filoviridae* y *reoviridae*. En el presente capítulo se discutirán aspectos de interés de la familia *flaviviridae* y en capítulos siguientes se tratarán las restantes familias.

Los arbovirus son virus que se mantienen en la naturaleza en un ciclo que involucra a artrópodos hematófagos (vector) y vertebrados (hospedero). Estos agentes son transmitidos por el vector a un huésped susceptible. En estos últimos se desarrolla una viremia (virus en sangre) suficiente en título y duración para infectar a aquellos vectores que piquen al huésped. Generalmente, la infección del vector es de por vida.

Algunos arbovirus pueden ser transmitidos mecánicamente y otros pueden ser transmitidos a través de diferentes secreciones del hospedero infectado. Entre los vectores se destacan los mosquitos y las garrapatas aunque cualquier artrópodo hematófago puede en principio transmitir un arbovirus. Algunos hospederos vertebrados sirven solo como fuente para la infección del vector mientras que en otros la enfermedad se produce. Los primeros junto a los vectores sirven como reservorios, diseminadores y amplificadores de los arbovirus. En general, los pájaros y roedores son los principales huéspedes vertebrados. Además de la transmisión biológica entre huéspedes vertebrados sensibles efectuada por artrópodos hematófagos, se puede producir la transmisión transovárica y posiblemente venérea entre artrópodos. Los arbovirus se reproducen y causan viremia en los vertebrados, se multiplican en los tejidos de los artrópodos y después de un período de incubación extrínseca, son transmitidos a otros vertebrados mediante la picadura de los artrópodos.

Los virus transmitidos por roedores son aquellos que persisten en la naturaleza por la transmisión dentro de una misma especie o entre especies diferentes de roedores sin que participen artrópodos vectores.

La infección viral, generalmente, es crónica en el roedor y se pueden transmitir por contacto directo con las secreciones salivales o venéreas, la leche, orina o infección intrauterina. Estos agentes se transmiten indirectamente al hombre, en particular, por la orina o saliva del roedor que sufre la infección crónica.

FLAVIVIRUS

La familia *Flaviviridae* está formada por tres géneros, los *Flavivirus*, los *Pestivirus* y la *Hepatitis C*. Estos tres géneros aunque con diversas propiedades biológicas y sin reactividad serológica cruzada, son similares en términos de morfología, organización del genoma y estrategia de replicación. El género *Flavivirus* está constituido por 69 virus de los que 67 se consideran arbovirus (virus transmitidos por artrópodos), destacándose aquellos transmitidos por mosquitos como la *Fiebre Amarilla* y el *Dengue*, los transmitidos por garrapatas como la encefalitis transmitida por garrapatas y los zoonóticos (transmitidos entre roedores o murciélagos en los que el artrópodo vector se desconoce). Ciertos *Flavivirus* son reconocidos como importantes patógenos para el hombre y los animales.

Se reconoce al virus de la fiebre amarilla (FA) como el prototipo de la familia.

CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS

Los flavivirus son virus esféricos de aproximadamente 40 a 60 nm de diámetro. Su genoma está protegido por una cápside proteica la cual está rodeada por una envoltura lipoproteica que presenta pequeñas proyecciones en su superficie las que al microscopio electrónico representan la glicoproteína de la envoltura (Fig. 73.1). Debido a la presencia de envoltura lipídica son susceptibles a las lipasas y solventes lipídicos como el cloroformo y la acetona los que llevan a la inactivación (destrucción de la infectividad) de estos agentes. En general, los flavivirus son sensibles a los pH ácidos y temperaturas elevadas, luz ultravioleta, irradiación gamma, y diferentes desinfectantes como alcohol, yodo, fenol, cloro entre otros.

ESTRUCTURA DEL GENOMA

El genoma de los flavivirus es un ARN de simple cadena de polaridad positiva de aproximadamente 11 kb. Este genoma tiene un marco de lectura de 10 000 bases situado entre dos regiones no codificantes, el extremo 5' (de 95 a 132 bases) y el extremo 3' (de 114 a 624 bases) (Fig. 73.2). Ambos extremos son de gran importancia en la replicación del ARN. El

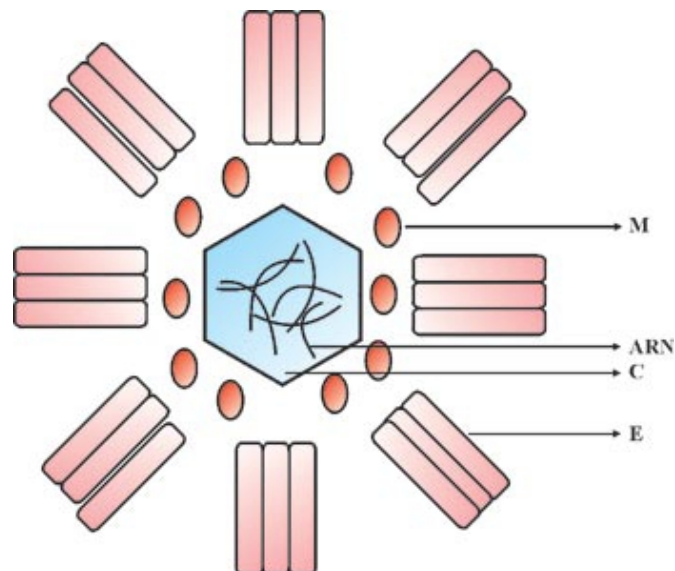


Fig. 73.1 Estructura de las flavivirus.

producto de la translación del ARN es clivado postranslacionalmente en sitios específicos mediante proteasas celulares y virales. El ARN codifica para tres proteínas estructurales (cápside, membrana y envoltura) y para siete no estructurales. El orden de los productos de clivaje en la poliproteína es NH₂-C-prM(M)-E-NS1-NS2a-NS2b-NS3-NS4a-NS4b-NS5-COOH.

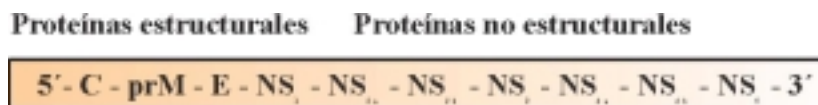


Fig. 73.2 Genoma de los flavivirus.

PROTEÍNAS ESTRUCTURALES

El virión maduro está constituido por tres proteínas estructurales, la proteína de la cápside (C) de 12 kd, la glicoproteína de la envoltura (E) de 53 kd y la de membrana (M) de 8 kd. La glicoproteína prM es el precursor de la proteína M, esta última presente en el virión maduro. Las proteínas M y E están asociadas a la envoltura lipídica. La proteína E se considera la de mayor importancia desde el punto de vista estructural y funcional. En ella radican las principales funciones biológicas como hemaglutinación (capacidad de aglutinar eritrocitos de ganso), neutralización, enlace del virión a los receptores celulares, así como fusión endosomal a pH bajos.

PROTEÍNAS NO ESTRUCTURALES

La glicoproteína NS1 está presente en la célula, en su superficie y en forma extracelular. Se le ha asignado un papel en la replicación viral y es capaz de inducir cierto grado de inmunidad protectora posiblemente por lisis celular mediada por complemento.

La proteína NS3, de 68 a 70 kd está muy conservada entre los flavivirus. Se considera la proteasa viral aunque también tiene función helicasa y trifosfatasa. Esta aporta un elevado número de epitopes de células T de importancia en la protección y en la patogenia de las infecciones por flavivirus.

La proteína NS5 de 103 a 104 kd es la más conservada entre los flavivirus y se considera la ARN polimerasa viral. Tiene además actividad metiltransferasa.

Poco se conoce de las funciones de las proteínas NS2a, NS2b, NS4a y NS4b. Se sabe que el extremo carboxilo terminal de la NS2b junto al extremo amino de la NS3 constituye la proteasa viral de los flavivirus.

CARACTERÍSTICAS ANTIGÉNICAS

Mediante la técnica de inhibición de la hemaglutinación se ha demostrado que los flavivirus muestran sitios antigénicos comunes lo que permitió su clasificación original como grupo B de los arbovirus en el año 1950, basándose en la reactividad frente a sueros policlonales. Actualmente se reconocen ocho complejos antigénicos basados en las relaciones antigénicas estudiadas utilizando la técnica de neutralización frente a antisueros policlonales aunque un grupo de flavivirus no está estrechamente relacionado (Cuadro 73.1). Los antisueros policlonales y monoclonales han permitido identificar en los flavivirus la presencia de diferentes determinantes antigénicos: grupo, complejo, tipo, subtipo, cepa los que representan las diferencias antigénicas en la proteína de la envoltura. El árbol evolutivo a partir de las secuencias aminoácidas de las proteínas de envoltura de los flavivirus muestra una relación entre estos agentes muy parecida a la obtenida mediante los estudios de neutralización con antisueros policlonales.

La proteína E es la principal en términos de desarrollo de anticuerpos neutralizantes e inmunidad protectora. A su vez, esta proteína es capaz de inducir el fenómeno de amplificación de la infección viral por anticuerpos (ADE) de gran importancia en la etiopatogenia del dengue hemorrágico. La proteína M también es capaz de inducir cierto grado de protección y actividad neutralizante. Las proteínas NS1 y NS3 también son capaces de inducir cierto grado de protección.

Cuadro 73.1. Complejos antígenicos en los flavivirus

Complejo antígeno	Agentes virales*	Vector
Encefalitis por garrapatas	Encefalitis primavera verano rusa, fiebre hemorrágica de Omsk, Louping Ill, Powasan	Garrapatas
Tyulenyi	Tyulenyi, Meaban	Garrapatas
Encefalitis japonesa	Encefalitis japonesa, encefalitis de San Luis, encefalitis del Valle de Murray, fiebre del oeste del Nilo, Kunjin	Mosquitos
Ntaya	Ntaya	Mosquitos
Uganda S	Uganda S, Banzi, Edge Hill	Mosquitos
Dengue	Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3, Dengue 4	Mosquitos
Río Bravo	Río Bravo, Dakar bat	Ninguno
Modoc	Modoc, Sal Vieja, San Perlita, Juliapa	Ninguno

*Ejemplos de algunos de los virus de cada complejo antígeno.

REPLICACIÓN

Los flavivirus pueden replicarse en células de mamífero, mosquitos y de aves. La replicación comienza cuando la partícula viral se une a la célula a través de receptores no bien definidos en la actualidad. El receptor viral está localizado en la proteína E. Después de la unión viral, se produce la entrada del virión a la célula a través de un mecanismo de endocitosis y fusión directa con la membrana plasmática a pH bajos. Posteriormente se produce la translación primaria del ARNm y su producto proteico es clivado en proteínas que servirán para producir el virión y los componentes de la replicación. A su vez, la replicación del virión comienza con la síntesis de cadenas complementarias negativas las que son utilizadas como moldes para la producción adicional del ARN genómico. Estas cadenas positivas pueden ser utilizadas para la translación de los péptidos estructurales y no estructurales o en la síntesis de ARN de cadena negativa o ser encapsidados para formar nuevos viriones. La maduración del virión ocurre en el retículo endoplásmico y la salida ocurre por exocitosis.

PATOGENIA

El agente viral es introducido en el hospedero a través de la saliva del mosquito infectado. El virus se replica en el punto de inoculación y a nivel de los ganglios linfáticos. A partir de aquí se libera al torrente sanguíneo y alcanza diferentes órganos. El tropismo viral es variado y, generalmente, incluye el sistema nervioso, las fibras musculares y el miocardio, el endotelio vascular, las glándulas endocrinas y exocrinas, los músculos lisos, etc.

El cuadro clínico producido por los flavivirus es variado observándose desde infecciones subclínicas o inaparentes, síndromes febriles, síndrome meningoencefálico y síndromes hemorrágicos.

DIAGNÓSTICO

La enfermedad presenta una fase virémica de corta duración. En general, la viremia está presente desde 2 y 3 días antes del comienzo de los síntomas hasta 2 y 3 días después. De 5 a 6 días después del comienzo de los síntomas comienza el desarrollo de anticuerpos IgM y más tardíamente los anticuerpos de tipo IgG. Los primeros tienen una corta duración en sangre (1-2 meses) y los segundos duran de por vida. En la figura 73.3 se presentan las vías utilizadas para realizar el diagnóstico de estos agentes. Para el aislamiento viral se utilizan cultivos celulares de mamíferos y artrópodos en dependencia del agente y la sospecha clínica. También han sido utilizados los ratones lactantes inoculados por vía intracerebral (los flavivirus producen una encefalitis en los mismos), así como mosquitos de diferentes géneros inoculados por vías intratorácica o intracerebral. La identificación del agente se

realiza mediante inmunofluorescencia indirecta utilizando sueros hiperinmunes monoclonales y policlonales. Mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP) puede detectarse la presencia del genoma de estos agentes permitiendo un diagnóstico rápido de los mismos. Los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) han sido utilizados para detectar la presencia de anticuerpos IgM (indicativos de una infección reciente) e IgG. Otras técnicas serológicas como la inhibición de la hemaglutinación y la neutralización también han sido empleadas. Finalmente, diferentes métodos inmunohistoquímicos han sido empleados para la detección del antígeno viral en muestras de tejido.



Fig. 73.3 Diagnóstico de los flavivirus.

INMUNIDAD

Se estima que estos agentes producen una inmunidad protectora de por vida siendo importante en la recuperación de la infección la respuesta inmune celular y humoral.

FLAVIVIRUS ASOCIADOS CON CUADROS MENINGOENCEFÁLICOS

Encefalitis de San Luis. La enfermedad es producida por el virus de la encefalitis de San Luis (ESL) el que es miembro del subgrupo antigénico de la encefalitis japonesa. Este agente puede producir una encefalitis, meningitis aséptica y un síndrome febril acompañado de fiebre. Generalmente, la forma severa de la enfermedad se observa en los mayores de 60 años quienes con elevada frecuencia desarrollan encefalitis. El período de incubación varía de 4 a 21 días. La enfermedad comienza con malestar general, fiebre, escalofríos, cefalea, anorexia, náuseas, mialgias seguido a los pocos días por la aparición de signos meníngeos y neurológicos. Los hallazgos más prominentes son reflejos alterados, tremor, y signos talámicos, así como disfunción cerebelar (nistagmo, ataxia). Algunos pacientes desarrollan convulsiones. La mortalidad se incrementa con la edad desde 2 % en los adultos jóvenes hasta 22 % en los ancianos. La enfermedad puede complicarse por infecciones bacterianas, hemorragia gastrointestinal y embolismo pulmonar. En los exámenes de laboratorio se observa un incremento de los leucocitos y de las transaminasas en suero. Puede observarse piuria, hematuria y proteinuria. El LCR muestra moderada pleocitosis principalmente por linfocitos, y niveles elevados de proteína. La convalecencia puede ser prolongada en un gran número de pacientes y se acompaña de astenia, irritabilidad, depresión, pérdida de memoria y cefalea.

La presencia de anticuerpos IgM en el LCR es criterio diagnóstico y se detecta a los 3 y 5 días de comienzo de los síntomas. También pueden detectarse niveles de anticuerpos IgM en el suero los que aparecen a partir del cuarto día de los síntomas y duran hasta 60 días de la enfermedad. El aislamiento viral en suero y LCR es infrecuente aunque puede lograrse en aproximadamente el 50 % de los fallecidos a partir de homogenizados de cerebro.

El tratamiento es de soporte y no se utilizan drogas antivirales

Cada 5 a 15 años se han producido brotes de ESL en los Estados Unidos aunque existe una epidemia baja de menos de 50 casos cada año. La tasa de mortalidad es, en general, de 7 % aunque varía en dependencia de la edad. Las infecciones inaparentes en los niños son frecuentes. En general, la enfermedad se presenta en los meses de verano. El ciclo de

transmisión involucra aves y mosquitos del género *Culex spp.* (principalmente *Culex pipiens* y *quinquefasciatus*). En las Américas la enfermedad se observa en forma esporádica. Actualmente no existe una vacuna disponible contra la ESL por lo que el control del vector es el método más utilizado en la prevención y control. La vigilancia incluye la detección de la actividad viral mediante aislamiento viral y detección del genoma viral por RCP en pools de mosquitos, así como la detección de anticuerpos en el suero de aves.

FLAVIVIRUS QUE CAUSAN SÍNDROME FEBRIL, ARTRALGIA Y ERUPCIÓN

Dengue y dengue hemorrágico. En la actualidad se considera que el dengue y su forma severa el dengue hemorrágico (DH) es la principal arbovirosis que afecta al hombre en términos de morbilidad y mortalidad. El complejo dengue está formado por cuatro serotipos (dengue 1, 2, 3 y 4) los que presentan en su envoltura antígenos específicos de tipo y de complejo. Las manifestaciones clínicas del dengue varían desde un cuadro febril indiferenciado observado principalmente en niños pequeños, el cuadro de la fiebre del dengue (FD) y la forma severa, el DH. La FD se caracteriza por su comienzo brusco acompañado de fiebre elevada, astenia, anorexia, artralgias y mialgias, dolor retrocular, erupción y cefalea intensa. Algunas manifestaciones hemorrágicas menores como petequias y epistaxis pueden observarse. La convalecencia puede ser prolongada aunque el paciente se recupera totalmente. Puede observarse disminución de los glóbulos blancos. El DH comienza en forma similar a la FD, pero al tercer o cuarto día de comienzo de la fiebre, se produce una caída de la misma acompañada de algún tipo de sangramiento como petequias, epistaxis, sangramiento por las punturas, hematemesis, melena y metrorragia en la mujer. Es criterio diagnóstico la presencia de hemoconcentración evidenciada por incremento del hematocrito en 20 % o más o ascitis y efusión pleural, así como trombocitopenia de $<100\,000$ plaquetas/mm³. El síndrome de choque por dengue se observa en un número menor de casos y se caracteriza por hipotensión, piel fría, irritabilidad y choque. El DH ha sido clasificado en varios grados de severidad, el grado I se caracteriza por fiebre y una prueba del torniquete positiva como único sangramiento. El grado II se acompaña de fiebre y algún tipo de manifestación hemorrágica. En los grados III y IV el paciente presenta choque el cual es prácticamente irreversible en el grado IV (Cuadro 73.2). En todos los casos está presente la hemoconcentración y la trombocitopenia. El tratamiento es de soporte e incluye reposo, antipiréticos y analgésicos.

El diagnóstico específico depende del aislamiento del agente a partir de suero o homogenados de muestras de tejidos (hígado, bazo, ganglios en los casos fatales) en cultivos celulares de células de mamífero, mosquitos o mediante la inoculación intratorácica en mosquitos de los géneros *Toxorhynchites* y *Aedes*. La identificación viral se realiza utilizando anticuerpos monoclonales específicos a los cuatro serotipos virales. La RCP permite la detección del genoma viral en pocas horas. El diagnóstico serológico depende de la detección de anticuerpos IgM utilizando ELISA o de la demostración de seroconversión de anticuerpos en un par de sueros tomados en la fase aguda y en la convaleciente de la enfermedad mediante ELISA o inhibición de la hemaglutinación.

El dengue se transmite en un ciclo que involucra al hombre y mosquitos del género *Aedes*. Se observa principalmente en zonas tropicales como Sudeste Asiático y Pacífico Occidental, la región de las Américas incluyendo el Caribe, Australia y África donde existen elevadas densidades del vector principal, el mosquito *Aedes aegypti* (Fig. 73.4 y 5). El período de incubación en el hombre es de 7 a 10 días y el período de incubación extrínseca en el

Cuadro 73.2. Grados de severidad en el dengue hemorrágico*

Grado severidad	Características
Grado I	Fiebre, síntomas no específicos, prueba del torniquete positiva
Grado II	Sangramiento espontáneo (petequias, equimosis, epistaxis, hematemesis, metrorragia entre otros)
Grado III	Fallo circulatorio (pulso rápido y débil, estrechamiento de la presión del pulso, o hipotensión, piel fría)
Grado IV	Choque profundo con tensión arterial y pulso no detectables

* Todos se acompañan de trombocitopenia ($<100\,000$ plaquetas/mm³) y hemoconcentración.

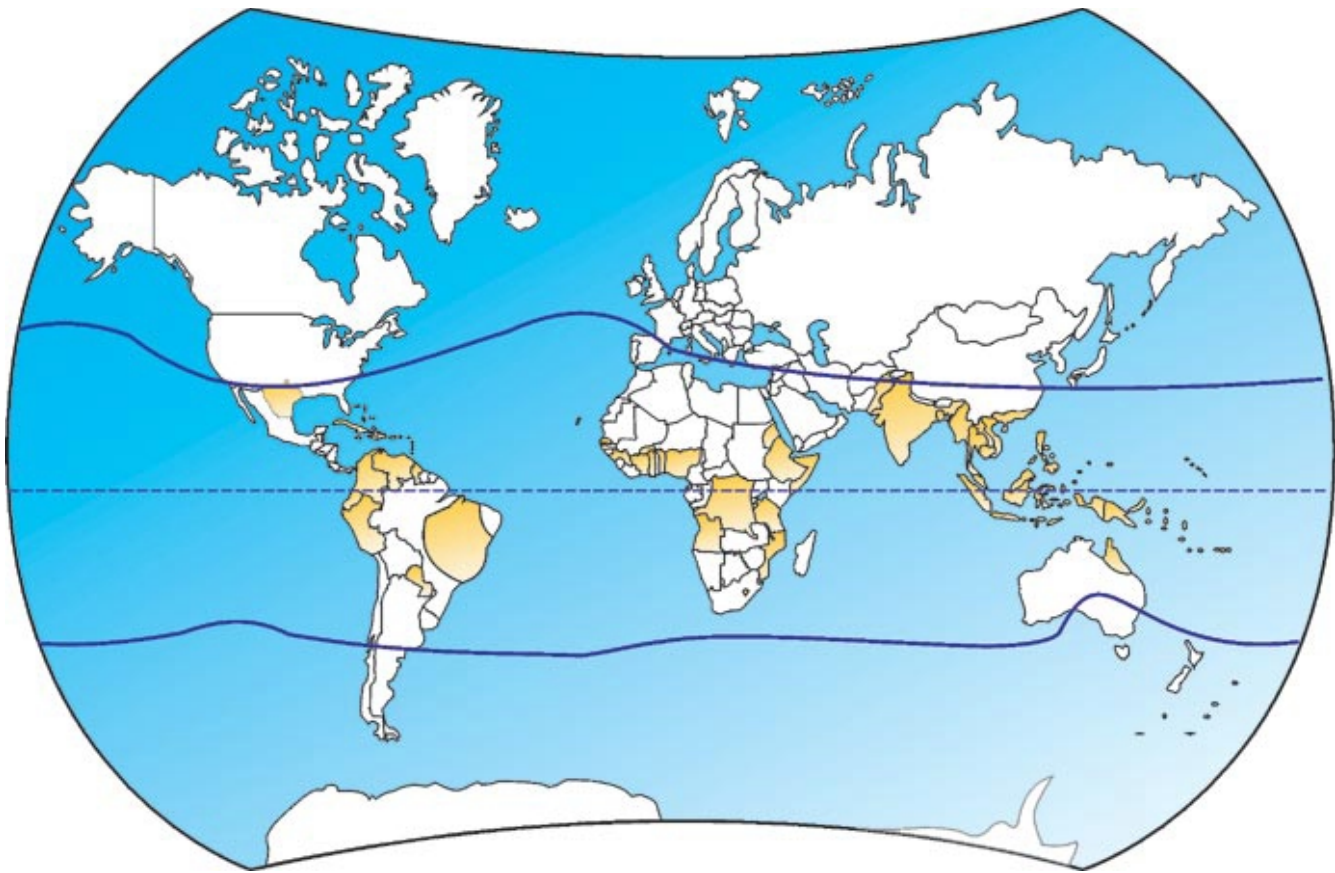


Fig. 73.4. Distribución mundial del dengue y el dengue hemorrágico, 1975-98.

mosquito es de hasta 15 días. Durante este último el virus se multiplica en el vector el cual queda infectado de por vida. Solo la hembra es capaz de transmitir la enfermedad.

En los últimos años se ha observado la emergencia y reemergencia de la enfermedad en diferentes áreas del mundo, relacionado al hecho de la expansión del vector principal, el *Aedes aegypti*. Anualmente se reportan más de 100 000 000 de personas afectadas, se considera que más de 100 países han reportado actividad de dengue y que 2,5 billones de personas viven en áreas de riesgo. La tasa de ataque de la enfermedad es de 4 % y la tasa de letalidad oscila entre 5/10 %. La urbanización no planificada, los serios problemas de abasto de agua, de recolección de desechos sólidos, el deterioro de los programas de salud incluyendo los programas de control del vector, las migraciones, el tráfico aéreo, son varios de los factores que han incidido en esta emergencia.

La infección homotípica (por un serotipo) produce inmunidad homóloga de por vida y heteróloga (a los serotipos restantes) de corta duración. El cuadro grave de la enfermedad se ha observado principalmente en aquellos individuos que sufren una segunda infección por un serotipo diferente del virus. Anticuerpos de tipo IgG de reactividad cruzada de la primoinfección se unen al segundo serotipo infectante y se forman inmunocomplejos los que facilitan la entrada del virus a la célula diana (monocitos) a partir de la unión del fragmento Fc de la inmunoglobulina al receptor Fc de la célula (Fig. 73.6). Estos monocitos infectados activan los linfocitos T CD4+ de memoria inducidos por la infección primaria los que producen linfoquinas como INF e IL-2. El primero regula la expresión de receptores Fc en el monocito y las moléculas HLA clase I y II (el aumento en estos receptores incrementa el número de células infectadas por los inmunocomplejos virus-anticuerpos y la regulación de las moléculas HLA facilita el reconocimiento de los antígenos del dengue). La lisis de los monocitos infectados por el virus puede liberar monoquinas y mediadores químicos. El sistema del complemento puede activarse por los complejos antígeno-anticuerpo. El incremento rápido en linfoquinas, monoquinas, mediadores químicos y los productos de la activación del complemento pueden llevar al incremento de la permeabilidad vascular, trastornos de la coagulación y hemorragia.

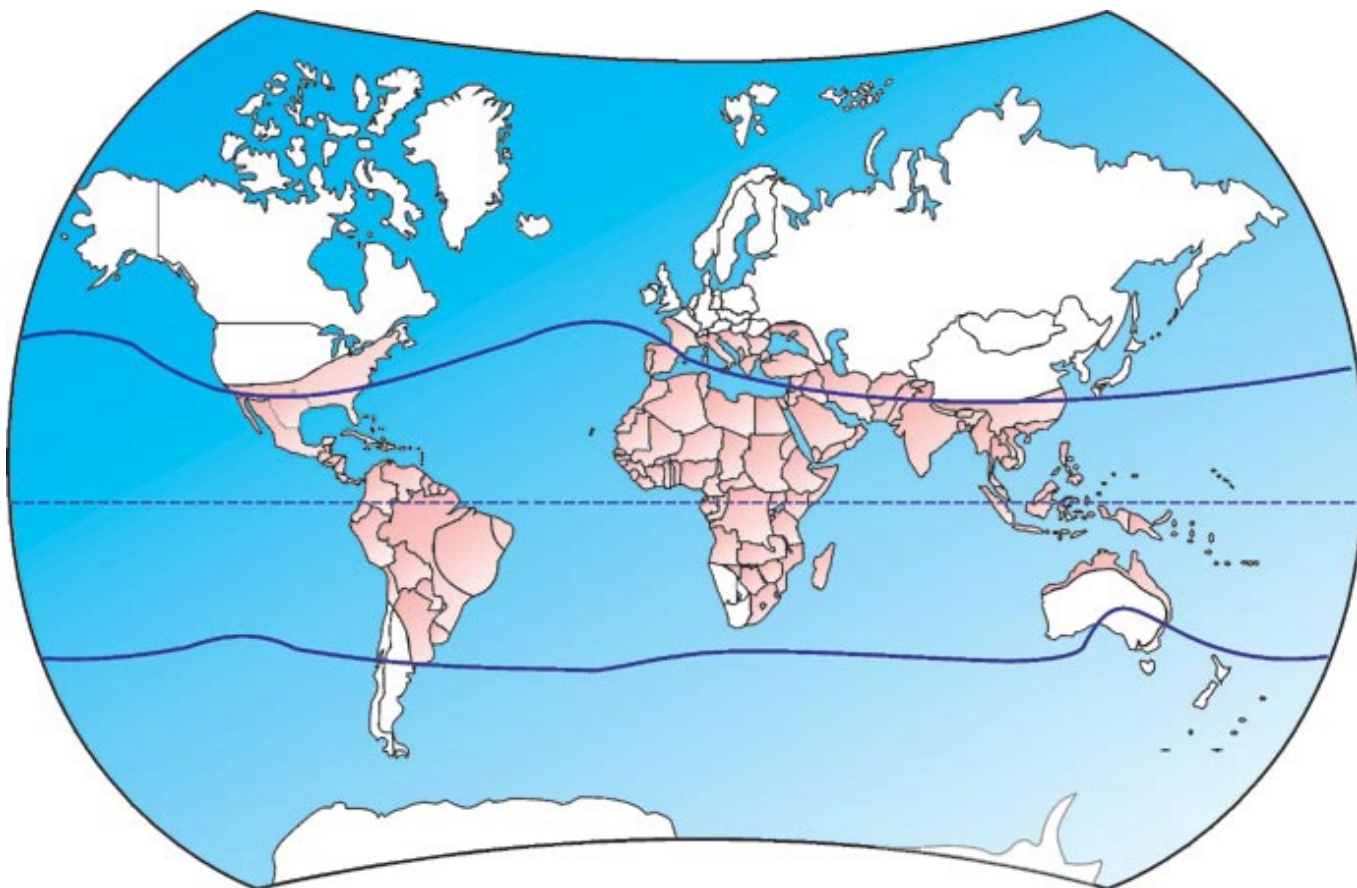


Fig. 73.5. Distribución actual y potencial del *Aedes aegypti*, 1998.

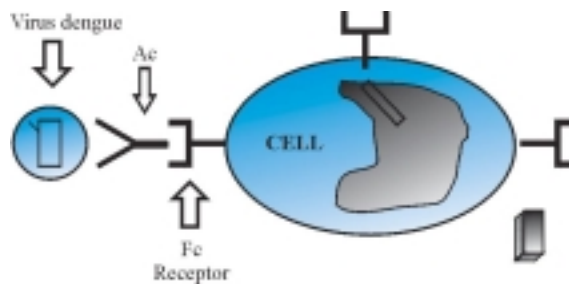


Fig. 73.6. Amplificación dependiente de anticuerpos.

La dinámica de transmisión de los virus del dengue está determinada por la interacción de factores del ambiente, el agente, el huésped y el vector. Los mismos se clasifican en macrodeterminantes y microdeterminantes. En los primeros se destacan los ambientales (latitud, elevación, temperatura y humedad relativa) y los sociales (densidad de población, patrones de urbanización,

abastecimiento de agua entre otros). En los microdeterminantes están la edad, sexo, estado inmune, condiciones de salud y ocupación del hospedero, el nivel de viremia que produce el agente viral y la abundancia y tipos de mosquitos, densidad de hembras adultas, edad de las mismas, frecuencia de alimentación, preferencia por el hospedero. En los Cuadros 73.3 y 4 se presentan los macro y microfactores determinantes de la transmisión del dengue. Entre los factores que condicionan la aparición de epidemias de DH se encuentran la infección secundaria, la secuencia de infección, la virulencia viral, la susceptibilidad individual, la intensidad de la transmisión del dengue y la circulación simultánea de varios serotipos.

La figura 73.7 muestra los factores dependientes del huésped, vector y ambiente que influyen en el desarrollo de las epidemias de DH según Kourí y cols. 1987.

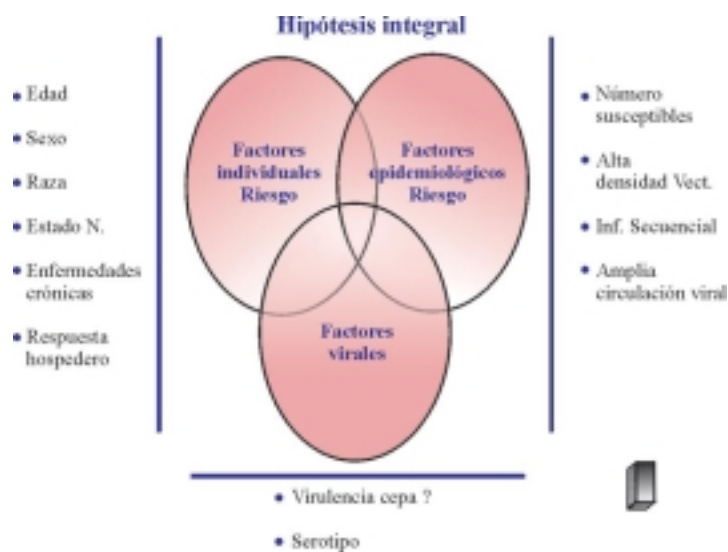
Actualmente no se dispone de una vacuna efectiva para esta entidad aunque se realizan investigaciones con el objetivo de desarrollar una vacuna que proteja frente a los cuatro serotipos virales. Se trabaja en el desarrollo de vacunas de primera generación (vacunas atenuadas e inactivadas), así como de segunda (recombinantes, químicas) y de tercera generación (vacunas ADN). Hasta que no se disponga de una vacuna efectiva, el control de la enfermedad se basará en el control y erradicación del mosquito vector, el *Aedes aegypti*.

Cuadro 73.3. Factores macrodeterminantes en la transmisión del dengue

Macrodeterminantes	Ambientales	Latitud: 35 N a 35 S Elevación: < 2 200 m Temperatura: 15-40 °C Humedad relativa moderada a alta
	Sociales	Densidad de población: moderada a alta Insuficiente suministro de agua Colección inadecuada de los desechos sólidos Status socioeconómico Creencias y costumbres sobre el dengue

Cuadro 73.4. Factores microdeterminantes en la transmisión del dengue

Factores del huésped	Edad, sexo Status inmune Condiciones de salud Ocupación
Factores del agente	Nivel de viremia
Factores del vector	Abundancia y tipos de criaderos Densidad de la hembra adulta Edad de las hembras Frecuencia de alimentación Preferencia por el huésped Disponibilidad de huéspedes Susceptibilidad a la infección

**Fig. 73.7** Dengue hemorrágico.

FLAVIVIRUS QUE CAUSAN FIEBRES HEMORRÁGICAS

Fiebre amarilla. La fiebre amarilla se reconoce como enfermedad en 1648, en México. Durante los siglos XVII hasta principios del XX se produjeron epidemias en la región de las Américas incluyendo el sur de los Estados Unidos. En 1881, Carlos Finlay presenta su teoría donde propone que los mosquitos eran los transmisores de esta enfermedad e incluso hace experimentos en voluntarios humanos logrando la transmisión de un individuo enfermo a uno sano. Posteriormente, se demuestra la existencia de un ciclo selvático tanto en las Américas como en África que involucra monos y especies selváticas de mosquitos.

El virus de la fiebre amarilla es el prototipo de la familia y no pertenece a ningún grupo antigénico en particular. Después de un período de incubación en el individuo de 3 a 6 días produce una enfermedad que puede variar desde un cuadro benigno, con síntomas inespecíficos y fiebre hasta el cuadro fulminante y menudo fatal.

La forma severa de la enfermedad comienza con fiebre aguda, escalofríos, cefalea, mialgia generalizada, anorexia, náuseas y vómitos y hemorragias gingivales o epistaxis. Esta etapa (período de infección) de 3 días aproximados de duración es seguida por el llamado período de remisión de 24 h de duración, en el que, generalmente, los síntomas se mitigan. Posteriormente, la fiebre y los síntomas reaparecen, principalmente, en forma de vómitos, dolor epigástrico, postración y aparece la ictericia (período de intoxicación). En esta fase aparecen los anticuerpos. Se observan los vómitos en borra de café (vómito negro), melena, metrorragia, petequias, equimosis. Se produce deshidratación producto de los vómitos y disfunción renal con albuminuria súbita y oliguria. La muerte ocurre entre el 20 y 50 % de los casos severos entre el séptimo al décimo día de la enfermedad y es precedida por ictericia, hemorragias, hipotensión, oliguria y azotemia. Los signos terminales de la enfermedad son la hipoglicemia, estupor, delirio, y coma. Se observa leucopenia, elevación de la bilirrubina y las transaminasas del suero, trombocitopenia, tiempo prolongado de la coagulación y de protombina entre otros. La convalecencia puede ser prolongada con astenia profunda.

El diagnóstico específico depende del estudio histopatológico (observación de los Cuerpos de Councilman en los hepatocitos), aislamiento viral (a partir de suero o muestras de tejidos), detección del genoma del agente mediante RCP utilizando las mismas muestras, la detección de antígeno viral en suero mediante técnicas inmunoenzimáticas o en tejidos mediante tinción inmunohistoquímica. Los métodos serológicos para detectar anticuerpos IgM mediante ELISA o incremento en los niveles de anticuerpos IgG en un par de sueros tomados en la fase aguda y convaleciente de la enfermedad también son utilizados en el diagnóstico de laboratorio.

El tratamiento es de sostén.

La fiebre amarilla es considerada una enfermedad zoonótica. Se estima que anualmente afecta más de 200 000 personas y causa más de 30 000 muertes. Tiene tres patrones de transmisión, el selvático, el urbano y un ciclo intermedio que une los dos patrones anteriores. El vector principal urbano es el *Aedes aegypti* (el virus se transmite cuando un mosquito pica a un humano infectado y después de un período de incubación extrínseca de 12 a 21 días de duración pica a otro individuo susceptible). En el patrón selvático, los monos son los hospederos primarios y el hombre es un huésped accidental. En América del Sur la enfermedad se asocia a aquellos trabajadores que entran a la selva a cortar madera. En el ciclo intermedio se observa transmisión de hombre a hombre y de mono a hombre (Figs. 73.8 y 9).

La vacuna 17D, es una vacuna efectiva y segura. Esta es una vacuna viva atenuada preparada en embriones de pollos infectados. El 95 % de los vacunados desarrollan inmunidad protectora en los 10 días posteriores a la vacunación y se considera que la protección dura por un período de 10 años. Las reacciones adversas por la vacunación son extremadamente raras e incluyen cefalea y malestar. Se recomienda la vacunación en aquellas áreas donde existe fiebre amarilla selvática y a aquellos individuos que entraran a zonas en riesgo.

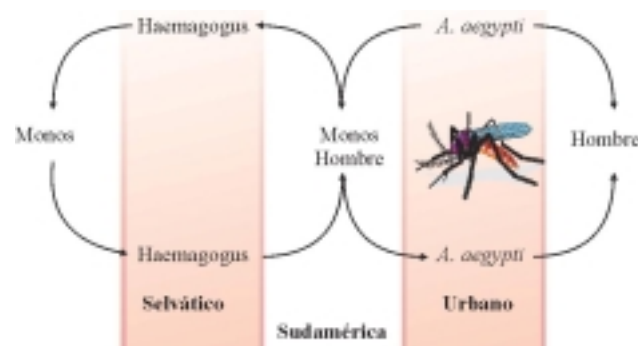


Fig. 73.8. Ciclos selvático y urbano de la fiebre amarilla (Américas).

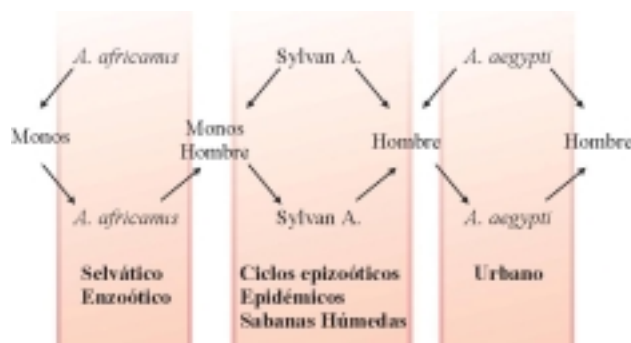


Fig. 73.9. Ciclo selvático, intermedio urbano de la fiebre amarilla (África).

RESUMEN

Los términos virus transmitidos por artrópodos y por roedores se refieren a los factores y condiciones ecológicas que gobiernan la transmisión de un grupo de agentes virales en la naturaleza. La mayoría de los mismos se incluyen en familias y géneros del sistema universal de clasificación de acuerdo con sus características morfológicas, morfogénicas, físicas, químicas y de replicación, no obstante los términos ecológicos siguen teniendo una considerable utilidad práctica.

Los arbovirus son virus que se mantienen en la naturaleza en un ciclo que involucra a artrópodos hematófagos (vector) y vertebrados (hospedero). Estos agentes son transmitidos por el vector a un huésped susceptible.

Dentro de los arbovirus el género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae* está constituido por 69 virus de los que 67 se consideran arbovirus destacándose aquellos transmitidos por mosquitos como la fiebre amarilla y el dengue, los transmitidos por garrapatas como la encefalitis transmitida por garrapatas y los zoonóticos (transmitidos entre roedores o murciélagos en los que el artrópodo vector se desconoce). Ciertos flavivirus son reconocidos como importantes patógenos para el hombre y los animales.

Los flavivirus son virus ARN de simple cadena y polaridad positiva. Su genoma está protegido por una cápside y esta por una envoltura lipoproteica.

La enfermedad presenta una fase virémica de corta duración. En general, la viremia está presente desde 2 y 3 días antes del comienzo de los síntomas hasta 2 y 3 días después. De 5 a 6 días después del comienzo de los síntomas comienza el desarrollo de anticuerpos IgM y más tardíamente los anticuerpos de tipo IgG.

Se reconocen tres síndromes clínicos producidos por los flavivirus: meningoencefalitis, fiebre y *rash* y fiebres hemorrágicas.

En la actualidad se considera que el dengue y su forma severa el dengue hemorrágico (DH) es la principal arbovirus que afecta al hombre en términos de morbilidad y mortalidad. Las manifestaciones clínicas del dengue varían desde un cuadro febril indiferenciado observado, principalmente, en niños pequeños, el cuadro de la fiebre del dengue (FD) y la forma severa, el DH. El dengue se transmite en un ciclo que involucra al hombre y mosquitos del género *Aedes*. Se observa principalmente en zonas tropicales como Sudeste Asiático y Pacífico Occidental, la región de las Américas incluyendo el Caribe, Australia y África donde existen elevadas densidades del vector principal, el mosquito *Aedes aegypti*. Actualmente no se dispone de una vacuna efectiva para esta entidad por lo que el control de la misma se basa en el control y erradicación del mosquito vector, el *Aedes aegypti*.

BIBLIOGRAFÍA

- Bravo J, Kourí G, M.G.Guzmán, 1987. Why Dengue Hemorrhagic Fever in Cuba.I Individual risk factors for Dengue Hemorrhagic Fever? *Trans. Royal Soc. Trop. Med Hyg* 81: 816-20.
- Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. Editado por D.J. Gubler y G. Kuno. CAB International, 1997.
- Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. 7th Edition. Editado por E.H. Lennette, D.A. Lennette, E.T. Lennette. American Public Health Association, 1995.
- Guzmán MG, Kourí G, 1996. Advances in dengue diagnosis. *Clin Diagnostic Immunol*, 3: 621-27.
- Guzmán MG, Kourí G, Halstead SB Do escape mutants explain the rapid increase in dengue case fatality rates? *Lancet* (in press).
- Guzmán MG, Huelva G, Saenz E, Quiroz E, Reyes E, Balmaseda A, González A Kourí G, 1998. Reintroducción del dengue 3 en las Américas, 1994-1996. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical* 2: 8-19.
- Guzmán MG, Kourí G, Bravo, J. La Emergencia de la Fiebre Hemorrágica del Dengue en las Américas: Re-emergencia del Dengue. *Rev Cub Med Trop* (In press).
- Guzmán MG, 1998. Avances para la obtención de una vacuna para el Dengue. *Acta Científica Venezolana*, 49:10-17.
- Guzmán MG, Kourí G, 1998. Advances in the molecular epidemiological studies on dengue viruses. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical*, 1:1-19
- Harrison Principios de Medicina Interna. Editado por A.S. Fauci, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, J.D. Wilson, J.B. Martin, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo. 14^a edición, 1998.
- Kourí G, Guzmán MG, Bravo B, 1987. Why Dengue Hemorrhagic Fever in Cuba.II An integral analysis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med Hyg*, 81: 821-23.
- Kourí G, Guzmán MG, Valdés L, Carbonell I, Rosario D, Vázquez S, Laferté J, Delgado J, Cabrera MV, 1998. Reemergence of Dengue in Cuba : a 1997 Epidemic in Santiago de Cuba. *Emerging Infectious Diseases*, 4: 89-92.
- Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. Editado por G.F. Brooks, S.A. Morse, J.S. Butel. El Manual Moderno, Mexico, 1998.
- Monath T, Heinz FX. Flaviviruses. *Fields Virology*. Third Edition. Editado por B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley et al. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996.
- Monath T, 1997. Epidemiology of yellow fever: current status and speculations on future trends. Factors in the Emergence of Arbovirus Diseases. JF Saluzzo, B Dodet eds. Elsevier, Paris.
- Organización Panamericana de la Salud, 1985. Virosis transmitidas por artrópodos y roedores. Serie de Informes Técnicos 719.
- Pan American Health Organization, 1994. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in the Americas: Guidelines for Prevention and Control. Scientific Publication N0. 548.
- Pelegrino JL, Suárez M, Guzmán MG, Vázquez S, Benítez N, 1996. Vigilancia de las Encefalitis de San Luis, Equina del Este y Equina del Oeste en la provincia de Ciego de Ávila. *Rev Cub Med Trop* Vol-25 48: 109-13.
- Rice CM, 1996. Flaviviridae: the viruses and their replication. *Fields Virology*. Third Edition. Editado por B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley et al. Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia, 1996.
- Rosario D, Álvarez M, Díaz J, Contreras R, Vázquez S, Rodríguez R, Guzmán MG, 1998. Rapid detection and typing of Dengue viruses from clinical samples using Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction. *Pan American Journal of Public Health*, 4:1-5.
- Vázquez S, Saenz E, Huelva G, González A, Kourí G, Guzmán MG, 1998. Detección de IgM contra el virus dengue en sangre total absorbida en papel de filtro. *Revista de la Organización Panamericana de la Salud*, 3: 174-78.
- World Health Organization, 1998. Yellow Fever. Division of Emerging and other Communicable Diseases Surveillance and Control. Global Programme for Vaccines and Immunization. Expanded Programme on Immunization.
- World Health Organization, 1998. Yellow Fever- Technical Consensus Meeting. Division of Emerging and other Communicable Diseases Surveillance and Control. Global Programme for Vaccines and Immunization. Expanded Programme on Immunization.



Coronavirus

Suset Oropesa Fernández

INTRODUCCIÓN

Los *Coronavirus*, son virus ARN, implicados en una gran variedad de patologías que afectan a los humanos. Ellos son causantes en el humano del catarro común y gastroenteritis en los lactantes. En animales inferiores se establecen infecciones persistentes en sus huéspedes naturales, siendo causa de morbilidad y mortalidad en diferentes animales del mundo. Los *Coronavirus* humanos son muy difíciles de cultivar y muy pocos se han podido caracterizar y estudiar completamente.

CARACTERÍSTICAS GENERALES. ESTRUCTURA DEL VIRIÓN

Los *Coronavirus*, son esféricos, con un tamaño aproximado entre 80 y 220 nm de diámetro, nucleocápsida helicoidal (9-11 nm de diámetro), genoma de ARN, de cadena única, lineal (no segmentado), de sentido positivo, de 27 a 32 kb, con un peso molecular de $5 \text{ a } 6 \times 10^6$, con remate poliadenilado.

Entre los diferentes virus, los *Coronavirus* poseen el genoma de mayor tamaño y es infeccioso, cuando se introduce dentro de las células eucarióticas. Se replican en el citoplasma, maduran en el retículo endoplasmático y aparato de Golgi, salen por gemación.

Poseen dos glicoproteínas, distribuidas por la superficie externa de la envoltura, dándole aspecto de corona solar. Algunos virus tienen una tercera prolongación en la superficie externa (hemaglutinina-esterasa), que semejan espigas grandes, en forma de raqueta o pétalo (20 nm de longitud).

PROTEÍNAS CONSTITUYENTES DE LA ESTRUCTURA VIRAL

Dentro de los constituyentes proteicos podemos citar:

Proteína de membrana (M), de 20 a 30 kDa. Matriz proteínica integrada en la capa lipídica de la envoltura, que interactúa con la nucleocápsida y la glicoproteína en espiga

(S; 180-200 kDa), y constituye los peplómeros en forma de pétalo. Estas proteínas se denominaron anteriormente como E₁ y E₂. La M difiere marcadamente de otras glicoproteínas virales. La misma puede inducir la producción de interferón alfa.

Proteína de la nucleocápsida (N), de 50 a 60 kDa. Fosforilada, asociada al ARN. Tiene la forma alargada; flexible; helicoidal. Aparece como bandas tubulares de 9 a 11 nm de diámetro.

Proteína hemaglutinina-esterasa (HE), de 120 a 140 kDa. Se encuentra en la envoltura de muchos de estos virus, dentro del grupo antigénico II, incluyendo *Coronavirus* respiratorios de humanos (HCB-OC₄₃), coronavirus bovino (BCV), virus de la encefalomiелitis hemaglutinante porcina (HEV), *Coronavirus* de los pavos (TCV) y algunas cepas de ratón (MHV). Produce hemaglutinación y actividad de acetilsterasa.

CLASIFICACIÓN

Para la clasificación de los *Coronavirus* se tomaron en cuenta las siguientes características: morfología de la partícula, estrategia peculiar de reproducción del ARN, organización del genoma, homología de la secuencia de nucleótidos.

Pertenecen a la familia *Coronaviridae*, que incluye dos Géneros: *Coronavirus* y *Torovirus*.

Se ha propuesto también incluir, al género *Arterivirus*, dentro de esta familia, por ser virus ARN de cadena positiva. Su replicación, es muy similar a la de estos virus, con alguna homología en las secuencias de sus nucleótidos. Este género incluye el virus que aumenta la deshidrogenasa láctica de los ratones.

Hay tres grupos serológicamente diferentes de *Coronavirus*, bien identificados.

Dos virus antigénicos de *Coronavirus humano* y un grupo antigénico diferente.

Los Coronavirus humanos están representados por las cepas 229E y OC43 de animales domésticos y de roedores.

El tercer virus incluye los virus de la bronquitis infecciosa aviar. Numerosas cepas de virus de la bronquitis infecciosa aviar (IBV) y virus de hepatitis en ratón (MHV), están siendo aislados de pájaros, siendo diferentes tanto serológica como biológicamente.

Parece existir heterogeneidad antigénica significativa, dentro de las cepas virales en un grupo antigénico mayor (o sea, similar a 229E).

Hay reacciones cruzadas entre algunas cepas humanas y animales. Y algunas de ellas poseen hemaglutininas.

Por la dificultad de ser cultivados, la extensa variación de cepas de *Coronavirus* en humanos, no han podido ser aislados ni bien caracterizados.

Las secuencias nucleotídicas de algunas cepas de *Coronavirus* se han determinado completamente y la secuencia parcial se está realizando a otros muchos.

CICLO REPLICATIVO DE LOS *CORONAVIRUS*

Para los estudios sobre la replicación de los *Coronavirus* se ha tomado como modelo al virus de la hepatitis murina (muy relacionado con la cepa humana OC43); debido a que el coronavirus humano, no crece bien en cultivo celular.

El ciclo replicativo ocurre en el citoplasma. La adhesión o primer paso en el ciclo, ocurre cuando el virus se adhiere directamente mediante las glicoproteínas (S o HE), a los receptores de la membrana plasmática de las células susceptibles. Los *Coronavirus* del grupo II que expresan la glicoproteína HE, pueden ligarse a los residuos de ácido neuramínico (9-*o*-acetilado), lo que puede facilitar la infección.

Muchos de los *Coronavirus* que no expresan la HE, sus S-glicoproteína se unen directamente al receptor específico de glicoproteína de la superficie celular.

Coronavirus del grupo I (HCV-229E humano), utilizan otro tipo de receptores, aminopéptidasa-N (APN). Los *Coronavirus* humanos y de ratones utilizan receptores no interrelacionados.

Ocurre después la penetración, probablemente por endocitosis (fusión con la membrana plasmática), mediada por la proteína S de la envoltura viral o en algunas cepas por fusión con las membranas endocíticas.

Al perder la envoltura el ARN genómico se traduce para formar una poliproteína (mayor que 800 kDa), procesada para producir múltiples proteínas que sirven como ARN, polimerasa dependiente del ARN, específico del virus. Esta polimerasa viral transcribe un ARN complementario de longitud completa (cadena de signo negativo), que sirve como plantilla para 5 o 7 ARN_m subgenómico. En la célula infectada se superponen estos ARN_m subgenómicos coterminales 3'. Estas moléculas tienen extremos 3' comunes y cada una contiene un gen adicional en el extremo 5', traduciéndose solamente la secuencia terminal 5' del gen de cada ARN_m.

A su vez, este ARN_m contiene en el extremo 5' una secuencia guía de casi 50 bases que también se encuentra en el extremo 5' del ARN genómico.

El ARN genómico (que quizás desempeña otras funciones en la transcripción y la replicación del ARN viral) y los ARN_m poseen remates y están poliadenilados.

Cada uno de los ARN policistrónico, se traduce para producir solo el péptido codificado en el extremo 5' del ARN_m. A partir del ARN complementario, también se transcriben copias del ARN genómico completo. Durante la replicación de los *Coronavirus* estos sufren de una alta frecuencia de recombinación y una gran incidencia de mutaciones por delección, poco habitual en los virus ARN con genoma no segmentado, pero a su vez, estas recombinaciones pueden explicar la variación antigénica observada en los *Coronavirus*, y contribuir a la evolución de nuevas cepas del virus. Cada ARN subgenómico se traduce en un polipéptido único.

La proteína N y el ARN recién sintetizados interactúan y se ensamblan en el citoplasma para formar nucleocápsidas helicoidales. Existe un sitio de enlace preferido para la proteína N dentro del ARN.

Las nucleocápsidas geman a través de las membranas del retículo endoplasmático rugoso y del aparato de Golgi en áreas que contienen las glicoproteínas virales.

La glicoproteína S, se glicosila, trimeriza y transporta a través del aparato de Golgi, donde sufre un procesamiento adicional y la que queda en exceso, sin incorporarse a los nuevos viriones se transporta a la membrana plasmática, donde puede participar en la fusión célula-célula.

En un compartimiento de gemación entre el retículo endoplasmático rugoso (RER) y el aparato de Golgi, se forman los nuevos viriones y se transportan en vesículas a la periferia de la célula, para salir por fusión mediada por la glicoproteína S y un Ph de 6,5 o más, o liberada después de muerta la célula.

La glicoproteína M de la matriz, se transporta al aparato de Golgi, donde se acumula; no se transporta a la membrana plasmática.

Después de la salida, pueden ser adsorbidos un gran número de viriones en el exterior de las células infectadas.

Las funciones de las proteínas no estructurales en la replicación de estos virus, se desconocen.

INFECCIONES HUMANAS PRODUCIDAS POR *CORONAVIRUS*

PATOGENIA

A cerca de la patogenia de las enfermedades producidas por *Coronavirus* se tienen muy pocos conocimientos. Son específicos de especie y los virus animales conocidos, muestran tropismo por las células epiteliales de los aparatos respiratorio o gastrointestinal.

Estos virus, *in vivo*, provocan infecciones que pueden diseminarse o ser localizadas. Las enfermedades en humanos, generalmente, se limitan a las vías respiratorias superiores.

In vitro, provocan una destrucción lenta, en placa de las células epiteliales ciliadas y pérdida del movimiento ciliar (este efecto destructor quizás se vincule con el desarrollo de la enfermedad *in vivo*).

La rata y el pollo, constituyen dos modelos animales de infecciones respiratorias producidas por *Coronavirus*.

Para los *Coronavirus* entéricos, existen varios animales, incluso el virus de la gastroenteritis porcina transmisible (TGEV). Se presenta en animales jóvenes, con destrucción de células epiteliales y pérdida de la capacidad de absorción.

En 1980, apareció, en Europa, un nuevo *Coronavirus* porcino de vías respiratorias (PRCV) que produjo epizootias muy extendidas en cerdos. El PRCV se derivó del TGEV, mediante una delección amplia en la glucoproteína S₁.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Enfermedad respiratoria. Se caracteriza por cuadros catarrales, con un período de incubación de 2 a 5 días, afebriles en el adulto, secreción nasal y malestar general y una duración hasta de 7 días. Se manifiesta, generalmente, como una infección respiratoria aguda del tracto respiratorio superior, también se presentan cuadros de neumonía, se exacerba el asma y en los individuos con enfermedad pulmonar crónica, se pueden aumentar los síntomas.

Entre los *Coronavirus*, que producen enfermedad respiratoria pueden citarse:

En el grupo antigénico I, el HCV-229E, produce infección en el humano; el TGEV en el cerdo y el FIPV en el gato. Pertenecientes al grupo antigénico II están, el HCV-OC43 (humano); el MHV (ratón); el HEV (cerdo) y el TCV en patos y en el grupo antigénico III, el IBV, que produce este cuadro respiratorio en pollos.

Enfermedad gastrointestinal. Diferentes *Coronavirus* pueden producir cuadros de infección entérica, el TGEV (en cerdos); el CCV (en perros); el FECV y el FIPV (en gatos), pertenecientes todos al grupo antigénico I. Otros son el MHV en ratón, el HEV en cerdos, el BCV en vacas, el RbEVC en conejos y el TCV en patos en el grupo antigénico II. No se han reportado *Coronavirus* que produzcan este cuadro dentro del grupo antigénico III.

No se ha podido demostrar, la presencia de estos virus o que causen enfermedad en humanos, sin embargo, estos virus pueden existir en el humano.

Se han reportado otros *Coronavirus* que son capaces de producir cuadros de hepatitis, infecciones neurológicas, peritonitis, problemas inmunológicos, nefritis, pancreatitis, parotiditis y adenitis entre otras.

INMUNIDAD

La inmunidad desarrollada por los individuos contra las prolongaciones superficiales del virus, desempeña una función relevante en la inmunidad de estos. Son comunes las reinfecciones con virus similares, aunque la protección puede durar años y los individuos ser resistentes a la reinfección.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Aislamiento e identificación del virus. Se utiliza para su aislamiento el cultivo de tráquea humana de embrión, pero resulta difícil aislarlos.

Examen directo. A partir de muestras de secreciones respiratorias y heces fecales, las técnicas más utilizadas para la detección de antígeno, mediante técnicas rápidas, son la ELISA y la microscopia electrónica (ME), además de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Serología. El diagnóstico serológico mediante la utilización de sueros pareados (primer suero del paciente tomado en fase aguda de la enfermedad, y el segundo suero, en fase convalescente). Es el método más práctico para confirmar la infección por *Coronavirus*. Otras técnicas serológicas que pueden ser empleadas son la FC' ELISA y hemaglutinación pasiva.

EPIDEMIOLOGÍA

Entre las características epidemiológicas de los *Coronavirus*, deben señalarse las enfermedades respiratorias en adultos (catarros), que pueden ser causa hasta de un 30 % del total

de cuadros catarrales en adultos, se presentan, generalmente, en invierno, cuando las infecciones respiratorias agudas son más frecuentes, vinculándose con brotes bien definidos. Se han reportado asociados a brotes producidos por el Norwalk virus.

Los *Coronavirus*, tales como el 229E; OC43 y B814, son responsables de más o menos un 10 % o un 15 % de los resfriados en adultos. Adquieren mayor importancia en el invierno y tempranamente en el verano, cuando la prevalencia de rinovirus es baja.

Los individuos que padecen estas infecciones durante su primera infancia, desarrollan anticuerpos que se mantiene en un 90 % de los adultos. La prevalencia aumenta con la edad.

Los conocimientos sobre la epidemiología de las infecciones éntéricas por *Coronavirus*, hasta el momento actual resultan insuficiente para su total conocimiento.

RESUMEN

Los *Coronavirus* pertenecen a la Familia *Coronaviridae*, que tiene los géneros *Coronavirus* y *Torovirus*.

Los *Coronavirus* son virus ARN, de sentido positivo, entre los virus poseen el genoma de mayor tamaño. Se replican en el citoplasma, maduran en el retículo endoplásmico y aparato de Golgi, salen por gemación. Poseen dos glicoproteínas en la superficie externa de la envoltura. Otros coronavirus tienen otra prolongación en forma de espiga grande (hemaglutinina-esterasa). Entre sus constituyentes proteicos están: la proteína M, la nucleocápsida, la HE. Hay tres grupos serológicamente diferentes y los coronavirus humanos están representados por las cepas 229E y OC43. Existe gran dificultad para cultivarlos. Se caracterizan por producir cuadros catarrales o infección respiratoria aguda y gastroenteritis en lactantes. Producen patologías en diferentes animales como ratón, gato, cerdos. El método más práctico para confirmar la infección es mediante el diagnóstico serológico. Muy pocos se han podido caracterizar y estudiar completamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Abraham S, Kienzle TE, Lapps W, Brian DA. Deduced sequence of the bovine coronavirus spike protein and identification of the internal proteolytic cleavage site. *Virology* 1990; 176: 296-301.
- Asanaka M, Lai MM. Cell fusion studies identified multiple cellular factors involved in mouse hepatitis virus entry. *Virology* 1993; 197: 732-41.
- Baker SC, Lai MM. An in vitro system for the leader-primed transcription of coronavirus mRNAs. *EMBO J* 1990; 9: 4173-79.
- Banner LR, Keck JG, Lai MM. A clustering of RNA recombination sites adjacent to a hypervariable region of the peplomer gene of murine coronavirus. *Virology* 1990; 175: 548-55.
- Banner LR, Lai MM. Random nature of coronavirus RNA recombination in the absence of selection pressure. *Virology* 1991; 185: 441-45.
- Lai MMC. Coronavirus: How a large RNA viral genome is replicated and transcribed. *Infect Agents Dis* 1994; 3: 98.
- M, Liesenfeld O, Ignatius R, Zeitz M, Riecken EO, Ullrich R. Stool viruses, coinfections, and diarrhea in HIV infected patients. Berlin Diarrhea-Wasting Syndrome Study Group. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996; 13(1): 33-38.
- Myint SH: Human coronaviruses: *Rev Med Virol* 1994; 4:35.
- Snijder EJ, Horzinek MC: Toroviruses: Replication, evolution and comparison with other members of the coronavirus-like superfamily. *J Gen Virol* 1993; 74: 2305.
- Yeager CL. Human aminopeptidase N is a receptor for human coronavirus HCV-229E. *Nature* 1992; 357:420.



Bunyavirus

María G. Guzmán Tirado
Gustavo Kourí Flores

INTRODUCCIÓN

La familia Bunyaviridae integrada por cinco géneros, está constituida por más de 300 virus los que tienen características estructurales similares (Cuadro 75.1). Incluye agentes que causan patología en el hombre y los animales aunque en su mayoría no son patógenos. Generalmente, no se produce la transmisión entre humanos y se mantienen en la naturaleza en un ciclo entre animales salvajes y artrópodos hematófagos (los que quedan infectados de por vida). La infección en el huésped vertebrado, generalmente, es aguda con una viremia corta. Se ha demostrado la transmisión transovárica y venérea de estos agentes en el insecto vector. Particularmente, en el género *Hantavirus*, no se ha demostrado la presencia de un artrópodo vector y el agente viral se perpetúa en roedores donde produce una infección asintomática. Los virus del género *Tospovirus* infectan plantas y son transmitidos por *thrips*. Las infecciones en el hombre, generalmente, son accidentales. En la mayoría de las ocasiones el hombre es infectado mediante la picada de un artrópodo vector aunque en los hantavirus las infecciones se producen por contacto estrecho con las secreciones del huésped vertebrado (roedores). Se asume que en este caso, también se produce transmisión entre roedores. En algunos géneros (*Nairovirus* y *Flebovirus*) se ha demostrado la transmisión por vías alternativas como el contacto con tejidos o fluidos corporales infectados (Cuadro 75.2).

CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE

Las partículas virales son esféricas o pleomórficas y su tamaño varía de 80 a 120 nm de diámetro. La envoltura viral constituida por una bicapa lipídica con espículas de glicoproteínas que rodean al core donde se encuentra el genoma. Todos los virus de la familia tienen en su constitución dos glicoproteínas (G1 y G2) con excepción de los *Nairovirus* que tienen tres. El genoma está constituido por tres fragmentos de ARN de simple cadena y polaridad negativa (grande, medio y pequeño).

Debido a su constitución lipídica se inactivan en presencia de solventes lipídicos, detergentes y B propiolactona. Además son sensibles al calor y los pH ácidos.

Cuadro 75.1. Familia *Bunyaviridae* y sus géneros. Principales virus de importancia médica, hospederos, insecto vector, situación geográfica y cuadro clínico

Género	Virus seleccionados	Hospederos	Insecto vector	Situación geográfica	Cuadro clínico
<i>Bunyavirus</i>	<i>La Crosse</i>	Roedores	<i>Aedes triseriatus</i>	América Norte	Encefalitis
	<i>Oropouche</i>		<i>Culicoides paraensis</i>	América Sur Centroamérica	Fiebre
<i>Nairovirus</i>	FHCC	Herbívoros	Garrapatas <i>Hyalomma</i>	África, Europa Oriental, Medio Oriente, Asia	Fiebre hemorrágica
<i>Flebovirus</i>	FVR	Animales domésticos, <i>sheep</i>	Flebotomos, mosquitos	África	Fiebre hemorrágica
<i>Hantavirus</i>	FHSR	Roedores	No demostrados	Corea, Europa Oriental	Fiebre, hemorrágica
	SPH	Roedores	No demostrados	Américas	Fiebre, fallo respiratorio

Cuadro 75.2. Principales virus del género Hantavirus

Agente	Hospedero natura	Cuadro clínico	Distribución geográfica
<i>Hantaan</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	FHSR	Europa, Asia
<i>Seoul</i>	<i>Rattus norvegicus</i>	FHSR	Europa, Asia
<i>Puumala</i>	<i>Clethrionomys glareolus</i>	FHSR	Finlandia, Noruega
Sin Nombre	<i>Peromyscus maniculatus</i>	SPH	América Norte
<i>Andes</i>	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	SPH	América Sur

DIAGNÓSTICO

El aislamiento viral a partir de pools del insecto vector y suero en el huésped vertebrado se realiza en ratones lactantes inoculados intracerebralmente o en cultivos celulares. La identificación viral se realiza mediante inmunofluorescencia con sueros hiperinmunes. Los estudios serológicos utilizando las técnicas de ELISA, inhibición de la hemaglutinación y la fijación del complemento son útiles en el diagnóstico. La reacción en cadena de la polimerasa es utilizada en el diagnóstico rápido del agente.

CUADRO CLÍNICO

Dentro del género *Bunyavirus*, el virus *la Crosse* (serogrupo California) produce encefalitis esporádica, principalmente, en niños. El período de incubación aproximado es de 7 días. Después de 3 días con síntomas no específicos, aparecen los signos de afectación del SNC como rigidez de nuca, cefalea y letargia. El contenido de proteínas en el LCR se encuentra elevado, así como el conteo de polimorfonucleares y mononucleares. Un 10 % de los pacientes desarrollan epilepsia como secuela de la infección. La enfermedad se localiza en Norteamérica. El vector principal es el *Aedes triseriatus* que pica durante las actividades de campismo.

El virus *Oropouche* del género *Bunyavirus* ha causado epidemias. La enfermedad se caracteriza por su comienzo agudo con fiebre, artralgia, mialgias, cefalea y postración. La misma dura de 1 a 2 semanas y su evolución es benigna. Se ha reportado en Sudamérica y Centroamérica.

El *Culicoides paraensis* es el principal vector urbano y el agente se mantiene en un ciclo vector-hombre durante las epidemias.

Los virus del género *Nairovirus* se transmiten por garrapatas. El agente de mayor importancia es el virus de la fiebre hemorrágica Crimea Congo (FHCC). Este virus está presente en aquellas regiones donde existen las garrapatas del género *Hyalomma* como África, Europa Oriental, Medio Oriente y Asia. Se mantiene en la naturaleza en tres formas, mediante

un ciclo garrapata-vertebrado y por transmisión transovárica y transtadial en garrapatas. Los huéspedes vertebrados incluyen mamíferos y algunas aves capaces de diseminar la enfermedad a largas distancias. La infección humana es rara y ocurre cuando una garrapata infectada pica al hombre, así como cuando este se pone en contacto con animales infectados o sus tejidos. Los grupos de riesgo incluyen agricultores y veterinarios. La transmisión de hombre a hombre por exposición a sangre contaminada, secreciones respiratorias, aerosoles y excretas ha sido reportada. El período de incubación es de 3 a 6 días con un comienzo abrupto con fiebre y síntomas respiratorios tipo influenza. Las manifestaciones hemorrágicas incluyen petequias, equimosis, hematemesis, melena acompañados de trombocitopenia y leucopenia. Se observa además ictericia, hepatomegalia, y niveles elevados de las enzimas hepáticas. La muerte ocurre entre el 10 y 50 % de los casos y está precedida por hemorragias, choque y fallo renal.

La fiebre del Valle de Rift (FVR) del género *Flebovirus* es transmitida por flebotomos. El período de incubación es de 2 a 6 días y se comporta como una influenza de 2 a 5 días de duración que es seguida por una convalecencia prolongada en algunos pacientes. En aproximadamente un 5% de los casos la infección puede ser fatal observándose necrosis hepática con hemorragia, retinitis y meningoencefalitis. El virus puede ser transmitido por una variedad de mosquitos (*Culex pipiens*, mosquitos del género *Aedes*) e infecta animales domésticos mayores. Las epizootias se han observado principalmente en Egipto y muchos países subsaharianos afectándose el ganado. En una epizootia, la enfermedad ocurre primero en el ganado y, posteriormente, en el humano, principalmente, en campesinos en estrecho contacto con los animales.

HANTAVIRUS

En la actualidad es el género de mayor importancia médica. Está constituido por virus enzoóticos de roedores en los que causan una infección crónica, posiblemente, asintomática. Estos son capaces de diseminar el agente mediante sus secreciones. Generalmente, el hombre se infecta por el contacto estrecho con roedores infectados. En los *Hantavirus* se destacan los que causan la *fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHSR)* y están presentes en el Viejo Mundo (identificados a partir de la década de los años 50) y los relacionados al *síndrome pulmonar por Hantavirus (SPH)* (identificados en el Nuevo Mundo a partir del año 1993). *Apodemus agrarius* es el hospedero natural del virus Hantaan identificado, en 1951, en Corea, durante una epidemia de fiebre hemorrágica. Este agente ha sido aislado en algunas zonas en Europa y en el oriente de China. Generalmente, la infección se observa en campesinos durante los períodos de siembra y cosecha. La FHSR se caracteriza por un síndrome febril acompañado de postración y manifestaciones hemorrágicas en un tercio de los pacientes. La mortalidad oscila entre 5 y 10 %. La fiebre de 3 a 7 días de duración es seguida por una fase de hipotensión con petequias, proteinuria y trombocitopenia. Algunos pacientes mueren en choque hipovolémico durante esta fase. Cuando se normaliza la tensión arterial o la misma eleva se pasa a la fase de oliguria que dura de 3 a 7 días. Finalmente el paciente puede evolucionar hacia una fase de diuresis que dura varios días. La recuperación es lenta. Las lesiones patológicas principales son las hemorragias diseminadas en los riñones.

El virus *Puumala* se ha reconocido por décadas como causante de la nefropatía epidémica en Finlandia, Noruega y Suecia. Su reservorio enzoótico es el *Clethrionomys glareolus*. La enfermedad se caracteriza por su comienzo agudo por fiebre, dolor abdominal, poliuria, manifestaciones hemorrágicas ligeras. La mortalidad es baja (menor de 1 %) y la mayoría de los pacientes se recuperan sin secuelas.

El SPH se identificó, por primera vez, en el suroccidental de los EUA. La mayoría de los casos incluyó adultos jóvenes con antecedentes de salud anterior que desarrollaron fiebre, dolores musculares con una evolución rápida al edema pulmonar intersticial y fallo respiratorio. En algunos pacientes se observó choque. Este brote se relacionó a lluvias inusuales que ocurrieron en la zona lo que hizo que los roedores cambiaran su hábitat en busca de alimentos, consecuentemente, se produjo una mayor exposición del hombre a excretas de roedores infectados. Los roedores de la subfamilia *Sigmodontinae* de múridos son los hospederos de los virus que causan el SPH. En la actualidad se han reportado brotes y casos en países de

Norteamérica, Sudamérica y Centroamérica. El tratamiento de los casos es de sostén aunque se ha utilizado la ribavirina con algunos resultados positivos. Entre las medidas de prevención y control se destacan aquellas que disminuyan las poblaciones de roedores y su contacto con la población humana.

RESUMEN

La familia *Bunyaviridae* integrada por cinco géneros, está constituida por más de 300 virus los que tienen características estructurales similares. Incluye agentes que causan patología en el hombre y los animales aunque en su mayoría no son patógenos. Generalmente, no se produce la transmisión entre humanos y se mantienen en la naturaleza en un ciclo entre animales salvajes y artrópodos hematófagos (los que quedan infectados de por vida). Las infecciones en el hombre, generalmente, son accidentales. En la mayoría de las ocasiones el hombre es infectado mediante la picada de un artrópodo vector aunque en los hantavirus las infecciones se producen por contacto estrecho con las secreciones del huésped vertebrado (roedores).

En la actualidad el género *Hantavirus* es el de mayor importancia médica. Está constituido por virus enzoóticos de roedores en los que causan una infección crónica posiblemente asintomática. En los *Hantavirus* se destacan los que causan la fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHSR) y están presentes en el Viejo Mundo y los relacionados al síndrome pulmonar por *Hantavirus* (SPH) (identificados en el Nuevo Mundo a partir del año 1993). Estos últimos se han reportado tanto en Norteamérica, Centro y Sudamérica.

BIBLIOGRAFÍA

- Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. 7th Edition. Editado por E.H. Lennette, D.A. Lennette, E.T. Lennette. American Public Health Association, 1995.
- Fields Virology, Third Edition. Edited by N. Fields, D.M.Knipe, Howley et al. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996.
- Harrison Principios de Medicina Interna. Editado por A.S. Fauci, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, J.D. Wilson, J.B. Martin, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo. 14^a edición, 1998.
- Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. Editado por G.F. Brooks, S.A. Morse, J.S. Butel. El Manual Moderno, México, 1998.
- Murphy FA, 1998. Emerging Zoonoses. Emerging Infectious Diseases 4: 329-435.
- Organización Panamericana de la Salud, 1999. Hantavirus en las Américas: Guía para el Diagnóstico, el Tratamiento, la Prevención y el Control. Cuaderno Técnico # 47.
- Vaheri A, Vapalahti O, Plyusnin A, 1999. Hantavirus infections in Europe: epidemiology, pathogenesis and diagnostics. Research Network for Control of Viral Haemorrhagic Fevers. Proceedings of the meeting organized by the Merieux Foundation and the European Commission, DG Science and Research (INCO Programme), Lyon, France.
- Valdés L, Carbonell I, Delgado J, Santín M. Enfermedades Emergentes y Reemergentes. Editado Ministerio Salud Pública Cuba, 1998.