COMITE DE EMERGENCIAS BIOLOGICAS DE LA RED DE HOSPITALES E INSTITUTOS DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

NUEVA GRIPE A (H1N1)

causada por el virus pandémico *Influenza* A H1N1/09

Actualización preliminar y provisoria

13 de julio de 2009

INDICE

Miembros del Comité y Expertos invitados 3
Introducción 4
- Historia de la enfermedad 4
- OMS – Fases de la pandemia 9

Patogenia 11
- Introducción general a los aspectos virológicos 11
- Características estructurales y funcionales de los componentes del virus *Influenza* 14
- Historia genética del nuevo virus pandémico *Influenza* A H1N1/09 18
- Patogénesis molecular de la infección por *Influenza* A(H1N1) por extrapolación y comparación 25
- Comparación entre la infección por el nuevo virus *Influenza* A(H1N1) y por otros virus *Influenza* 27

Aspectos epidemiológicos iniciales de la pandemia 31
- Conclusiones y perspectivas epidemiológicas 35

La nueva influenza A (H1N1) y los porcinos 36
Cuadro clínico 38
Sobreinfección bacteriana 38
Requerimientos institucionales 40
- Medidas generales 40
- Toma y envío de las muestras 41
- Elementos clave de la atención sanitaria de los pacientes con infección respiratoria 44
- Notificación obligatoria 46

Diagnóstico virológico 48
- Descentralización del diagnóstico 48
- Métodos diagnósticos 49
- Algoritmo diagnóstico 51
- Diagnóstico molecular 53
- Cultivo viral 56
- Otros métodos diagnósticos 58

Tratamiento antiviral 61
Medidas generales de prevención 65
Vacunas para la nueva influenza A (H1N1) 65
- Virus vacunales disponibles 66

Anexo 68
- Ficha clínico – epidemiológica de notificación e investigación de casos 68
- Ficha para la entrega de medicación 70
- Afiche de divulgación 71

Bibliografía 72

MIEMBROS DEL COMITE

Coordinadora: Dra. PREDARI, Silvia Carla
Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari

Secretaria: Dra. COSTANTINI, Patricia Elena
Instituto de Oncología Angel H. Roffo

Miembros: **Prof. Dra. FAMIGLIETTI, Angela**
Facultad de Farmacia y Bioquímica

Prof. Dr. SORDELLI, Daniel
Facultad de Medicina

Dra. FOCCOLI, Mónica
Hospital de Clínicas José de San Martín

Dra. NATIELLO, Marcela
Instituto de Tisioneumonología Raúl Vaccarezza

Dr. SANCHEZ, Javier
Asesor Legal de la Red de Hospitales e Institutos

Sr. CACERES, José
APUBA

EXPERTOS INVITADOS

Prof. Dra. BRATANICH, Ana Cristina
Facultad de Ciencias Veterinarias

Prof. Dra. CAVALLARO, Lucía
Facultad de Farmacia y Bioquímica

Prof. Dra. MARTINEZ PERALTA, Liliana Amalia
Prof. Dr. OUBIÑA, José Raúl
Facultad de Medicina

INTRODUCCION

INFLUENZA. HISTORIA DE LA ENFERMEDAD

La enfermedad respiratoria aguda altamente contagiosa conocida como influenza, parece haber afectado a los humanos desde la antigüedad. La súbita aparición de enfermedades respiratorias que persistían por pocas semanas e igualmente desaparecían, caracterizó a un número de epidemias en el pasado. Una de estas epidemias fue comunicada por Hipócrates, el padre de la Medicina, en el año 412 a.C. Numerosos episodios similares también fueron descritos en la Edad Media. El término "influenza" fue introducido en Italia al inicio del siglo XV para describir una epidemia que fue atribuida a la influencia de las estrellas. El término fue adoptado por los ingleses en el siglo XVIII; durante el mismo período los franceses denominaron a la enfermedad, *la grippe*.

La primera pandemia ocurrió en 1580 y se cree se originó en Asia; de ahí se dispersó a África y a Europa. La mortalidad fue elevada en algunas ciudades, e indudablemente fue incrementada por la práctica de sangrar al enfermo para disminuir la fiebre. Durante los siguientes tres siglos, a pesar de que el seguimiento fue irregular y no muy preciso, hubo un número definido de pandemias (junto con las epidemias intermedias), en las que los historiadores están de acuerdo. La investigación retrospectiva en la década pasada ha aclarado parcialmente la naturaleza de la pandemia de 1889, al detectar anticuerpos para influenza en el suero de individuos que vivieron en ese tiempo. Sin embargo, no fue sino hasta 1930 que un virus específico fue identificado como la causa de la influenza, siendo el comienzo de un mejor entendimiento de la enfermedad.

En términos de números de las víctimas humanas, la gran pandemia de 1918-19 no tuvo precedentes. Las estimaciones oscilan entre un mínimo de 20 millones de muertes en todo el mundo hasta más del doble de este número. Más de 500.000 óbitos fueron comunicados en EE.UU. y alrededor de 20 millones de muertes ocurrieron sólo en la India. Algunas zonas de Alaska y de las islas del Pacífico perdieron a más de la mitad de su población.

En EE.UU. la mayoría de los lugares públicos fueron cerrados; los hospitales estaban excedidos y faltos de servicios médicos. Adultos previamente sanos, enfermaron y murieron en un lapso de 24 horas. Familias enteras padecieron en la soledad de la enfermedad, a pesar del accionar de los servicios voluntarios en todo el país. Existieron remedios extraños e inusuales, pero al final, el único tratamiento efectivo fue un buen cuidado por parte de las enfermeras.

Aún no se ha dilucidado por qué la pandemia fue tan letal. Ciertamente, infecciones bacterianas secundarias que causaron neumonía -las cuales serían tratadas actualmente con antibióticos- y otras comorbilidades fueron en algunos casos, sino en la mayoría, la principal causa de muerte. Otro factor importante pudo haber sido un marcado incremento en la virulencia del virus durante las primeras fases de la pandemia en la primavera y verano de 1918. Hasta ahora, todos los intentos para responder a estas

preguntas han fallado, incluyendo el análisis de tejido de las víctimas y de la exhumación en 1950 de cuerpos enterrados en el suelo congelado de Alaska en búsqueda de la cepa de virus relacionada.

El nombre dado a la pandemia de 1918-19 fue "Gripe Española", un nombre discutible que ha persistido hasta estos días, a pesar que los casos de influenza se dieron en muchos lugares del planeta. Aparentemente, España adquirió esta dudosa distinción por ser el país en el que habrían desembarcado tropas extranjeras que ya padecían la enfermedad y la propagaron inicialmente en su territorio.

Es difícil inferir cuál fue la primera área geográfica afectada, ya que la pandemia se presentó en tres oleadas: en la primavera de 1918, el invierno de 1918 y los primeros meses de 1919; teniendo en cuenta el hemisferio norte. No se prestó atención a la enfermedad hasta la "ola asesina" del invierno de 1918.

En busca de la etiología

Por siglos, el hombre ha especulado acerca de la causa de la influenza, atribuyéndola a las estrellas, el tiempo y los gases venenosos de los pantanos. En 1849 Charles Creighton, un eminente epidemiólogo británico, insistió que la influenza no era transmisible. Sin embargo, al final del siglo XIX el concepto microbiológico de la enfermedad ya tenía raíces, y preparaba el terreno para el descubrimiento de un bacilo en la garganta de algunos pacientes con influenza. Este bacilo, *Haemophilus influenzae* (también conocido como bacilo de Pfeiffer, en honor al microbiólogo alemán F. J. Pfeiffer), permaneció por muchos años como el agente causal de la influenza. El descubrimiento de la verdadera etiología se produjo al final de los años veinte, cuando por primera vez, una cepa viral fue encontrada en los cerdos. Una cepa relacionada fue finalmente aislada de un paciente humano en 1933. Un número de acontecimientos históricos de la enfermedad mencionan la interesante coincidencia de la influenza como enfermedad en animales -particularmente en caballos- inmediatamente después o simultáneamente con las epidemias en el hombre. Si bien es cierto que los virus que causaron brotes de la enfermedad entre animales ocurrieron muchas veces en el pasado, no fue sino hasta fines de 1918 que pudo ser establecida una relación cercana entre la influenza del hombre y la de los animales. J. S. Koen veterinario de Fort Dodge, Iowa, e inspector del Departamento de Agricultura, informó acerca de una nueva enfermedad que había aparecido en los cerdos en Medio Oriente, similar y coincidente con la influenza humana entre familias; concluyó que ambas habían sido una única e idéntica enfermedad.

Después de largas investigaciones sobre la transmisibilidad de la influenza entre los cerdos, Richard E. Shope del Instituto Rockefeller de Patología Comparativa, Princeton, NuevaYork, demostró que el virus podía ser transmitido entre cerdos con material filtrado. El trabajo de Shope fue advertido en Inglaterra, en donde se realizó otro intento para aislar el virus durante una epidemia de influenza humana en 1933. Los progresos fueron rápidos desde entonces. En 1940 los hurones fueron experimentalmente infectados con un segundo tipo de virus influenza de humano. La segunda cepa humana fue designada *Influenza* B, para distinguirla del primer tipo encontrado denominado *Influenza* A. Un tercer tipo de virus

Influenza, el virus *Influenza* C, fue aislado de un hombre en 1949. Asimismo, en 1940 F. M. Burnet en Australia observó que los virus de influenza podían multiplicarse en las células de la cavidad alantoidea de embriones de pollo en desarrollo, y un año más tarde George K. Hirst del Instituto de Investigación de Salud Pública de Nueva York documentó que el fluido de los embriones de pollo infectado con influenza podía aglutinar a los glóbulos rojos de los pollos. Esta hemaglutinación desaparecía por acción del calor, lo cual sugirió la presencia de una enzima en el virus que causaba su disociación de la célula roja. La disponibilidad de altas concentraciones de virus de influenza obtenidas de los embriones de pollo, dio lugar al desarrollo de vacunas inactivadas para el hombre. La reacción de hemaglutinación pudo ser inhibida por anticuerpos específicos en el suero del hombre o de animales infectados, o vacunados con virus de la influenza. Así, un método sencillo hizo posible distinguir entre diferentes cepas de influenza al medir la respuesta inmune del hombre a una cepa dada.

En los pasados 100 años, han habido cinco grandes pandemias: 1890, 1900, 1918, 1957 y 1968. El virus influenza H2N2 responsable de la "Influenza o Gripe Asiática" que circuló en la pandemia de 1957, sustituyó repentinamente al virus H1N1 que había circulado anteriormente en la población humana. De manera similar, una nueva cepa pandémica que llegó en 1968, el virus de la llamada "Influenza de Hong Kong", contenía un cambio a H3N2 y rápidamente sustituyó al virus H2N2 que circuló entre 1957 y 1968. Técnicas seroarqueológicas (probando los anticuerpos de gente que había vivido durante estas epidemias) han demostrado que la cepa de 1890 fue un virus H2N8, la cepa de 1900 fue H3N8, y la cepa de 1918 fue un virus H1N1, el cual apareció nuevamente en 1977 y está aún en circulación junto con la cepa H3N2. Han transcurrido aproximadamente 40 años desde que ocurrió la última pandemia de influenza humana, la pandemia de Hong Kong en 1968. El virus de influenza A H3N2 que fue introducido en la población humana en ese entonces, contenía una nueva hemaglutinina, el principal antígeno de superficie. El virus de influenza A H2N2 de la pandemia de 1957 constaba de nuevas moléculas de hemaglutinina y neuraminidasa. Estudios filogenéticos revelaron que estas nuevas glicoproteínas se originaron en virus de las aves, y que comprometieron a la población humana después de la reasociación con cepas de influenza de origen humano. Sin embargo, los virus relacionados a la más desvastadora pandemia de influenza, en 1918-19, al parecer fueron introducidos a la población humana sin evento alguno de reasociación.

En mayo de 1997, un virus de influenza fue aislado del aspirado traqueal de un niño de 3 años en Hong Kong; el niño murió días después de su ingreso al hospital por neumonía por influenza, síndrome respiratorio agudo, síndrome de Reye, fallo multiorgánico y coagulación intravascular diseminada. No se le conocía enfermedad alguna antes de ser hospitalizado. El virus no pudo ser caracterizado por la prueba de inhibición de la hemaglutinación con antisueros de hurones contra virus humanos y porcinos. Análisis posteriores demostraron que el virus era *Influenza* A H5N1, un subtipo que no había sido previamente identificado en los seres humanos.

El virus *Influenza* A H5N1 cumple con dos de los tres criterios que definen a un nuevo virus influenza con carácter pandémico: 1) la habilidad para replicarse en los seres humanos, y 2) la ausencia de anticuerpos contra este virus en la población humana. El tercer criterio es la suficiente transmisibilidad interhumana del virus como para mantener brotes a nivel de la comunidad, lo cual no ha ocurrido hasta el momento.

Aproximadamente seis meses después del primer caso de infección humana con el subtipo H5N1, 17 nuevos casos -5 de ellos fatales- fueron confirmados. Resultados preliminares de secuenciación demostraron que todos los genes eran de origen aviar, sugiriendo transmisiones independientes múltiples de pájaros infectados a la gente. Si la transmisión entre especies ocurre en períodos de epidemia de influenza humana, el mismo hombre podría funcionar como un vaso mezclador. Aunque no existe evidencia de una dispersión eficiente del virus, su detección ilustra la importancia de un sistema de vigilancia epidemiológica intensivo. En la Figura 1 se muestra la historia secuencial de las pandemias y de las nuevas cepas humanas de virus influenza desde el año 1900 hasta nuestros días.

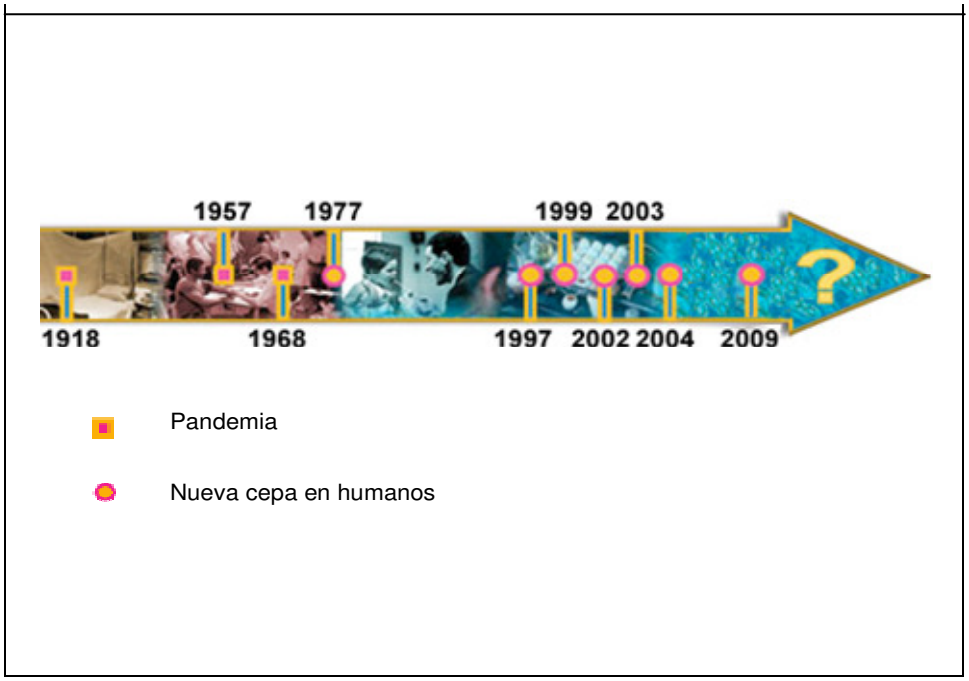


Figura 1. Historia de pandemias y de nuevas cepas humanas de virus *Influenza* desde 1900 hasta nuestros días.

Especificación sobre las pandemias y nuevos brotes

- **Pandemia 1918: "Gripe Española" H1N1**

Fue la pandemia más desvastadora, con 20 a 50 millones de muertes en todo el mundo.

Pandemia 1957-58: "Gripe Asiática" H2N2

Fue identificada primero en China, con 1-2 millones de muertes en todo el mundo. Dado que esta cepa no ha circulado en humanos desde 1968, nadie con menos de 40 años tiene inmunidad hacia ella.

Pandemia 1968-69: "Gripe de Hong Kong" H3N2

Fue detectada primero en Hong Kong, con 700.000 muertes en todo el mundo. Los virus H3N2 todavía circulan en nuestros días.

Nuevas cepas aisladas:

1976

Cuatro soldados se infectaron con influenza del cerdo en una base de Nueva Jersey, EE.UU.; hubo una muerte.

Nueva cepa humana 1977: **"Gripe Rusa" H1N1**

Aislada en el norte de China, esta cepa era similar a la que se diseminó antes de 1957. Por este motivo, las personas nacidas antes de 1957 estaban protegidas.

Nueva cepa humana 1997: **H5N1**

Por primera vez se demostró la transmisión directa de aves al hombre, con infecciones ligadas a mercados de aves. Fueron hospitalizadas 18 personas, de ellas seis murieron.

Nueva cepa humana 1999: **H9N2**

Causó enfermedad en dos niños de Hong Kong, con aves de cría como fuente probable.

Nueva cepa humana 2002: H7N2

Se evidenció infección en una persona luego de un brote en aves de cría.

Nueva cepa humana 2003: H5N1

H5N1

Dos miembros de una familia fueron hospitalizados luego de la visita a China, muere uno de ellos. Un tercer miembro de la familia muere en China sin diagnóstico.

H7N7

Trabajadores holandeses de criaderos de aves se enfermaron con conjuntivitis o gripe. Un veterinario que visitó una de las granjas, falleció.

H7N2

Un persona fue hospitalizada en Nueva York.

H9N2

Un niño enfermó en Hong Kong.

Nueva cepa humana 2004: H5N1

H5N1

Cuarenta y siete personas enfermaron en Tailandia y Vietnam de las cuales murieron 34. Preocupación acerca de la posible endemicidad de esta cepa en Asia.

H7N3

Enfermaron dos trabajadores de criaderos de aves en Canadá.

H10N7

Enfermaron dos niños en Egipto. El padre de uno de ellos era comerciante de aves.

2005: H5N1

El 30 de diciembre, la OMS comunicó un total de 142 casos confirmados de infección por H5N1, todos en Asia (Tailandia, Vietnam, Camboya, Indonesia y China) con 74 muertes.

2006: H5N1
Se agregaron casos en Turquía, Iraq, Azerbaijan y Djibouti.
Durante 2006 ocurrieron 115 casos humanos de infección con H5N1, con 79 muertes.
2007: H5N1
Se agregaron casos en la República Democrática de Laos, Myanmar, Nigeria, Pakistán y Vietnam, con 59 muertes.
H7N7
Cuatro casos se confirmaron en Gran Bretaña en individuos expuestos a la cría de aves.
2008: H5N1
A fin de año se confirmaron 40 casos en Bangladesh, Camboya, China, Egipto, Indonesia y Vietnam.
2009: H5N1
Se identificaron nuevos casos en Egipto, China, Indonesia y Vietnam.

Nueva cepa humana 2009: H1N1

En abril se confirmó una infección humana con una nueva cepa de virus *Influenza* A (H1N1) en México. En pocas semanas se detectaron infecciones humanas en los EE.UU. y comenzaron a aparecer en otras regiones del mundo.

FASES DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD PARA LA PANDEMIA DE INFLUENZA

Las fases para la pandemia de influenza han sido diseñadas por la OMS como un sistema para informar al mundo sobre el riesgo de pandemia de influenza, y para facilitar el planeamiento de la prevención y de las medidas a adoptar en las distintas situaciones.

Tabla 1
Fases de pandemia de influenza según la Organización Mundial de la Salud

Fase interpandémica	Bajo riesgo de casos humanos	**1**
Nuevo virus en animales, sin casos humanos	Alto riesgo de casos humanos	**2**
Alerta pandémico Nuevo virus causa casos humanos	No hay transmisión interhumana, o es muy limitada	**3**
	Evidencia de transmisión interhumana aumentada	**4**
	Evidencia de transmisión interhumana significativa	**5**
Pandemia	Transmisión interhumana eficiente y sostenida	**6**

Tabla 2

Fases de pandemia de la OMS y objetivos de planeamiento

Fase interpandémica	
Fase 1 No se han detectado nuevos subtipos de influenza en humanos. Un subtipo que ha causado infección puede estar presente en animales, pero el riesgo de infección humana es considerado bajo.	Reforzar preparativos para la pandemia de influenza a niveles global, regional, nacional, subnacional y local.
Fase 2 No se han detectado nuevos subtipos de influenza en humanos. Sin embargo, un subtipo de influenza animal circulante posee un riesgo importante de enfermedad humana.	Minimizar el riesgo de transmisión a humanos: detectar e informar dicha transmisión rápidamente, si ocurre.
Alerta pandémica	
Fase 3 Infección/es humana/s con un nuevo subtipo, pero sin diseminación humano a humano, o muy raras instancias de diseminación a un contacto cercano.	Asegurar la rápida caracterización del nuevo subtipo de virus y su detección temprana, notificación y respuesta a casos adicionales.
Fase 4 Pequeños núcleos con transmisión humano a humano limitada, pero la diseminación es altamente localizada, sugiriendo que el virus no está bien adaptado a humanos.	Contener el nuevo virus a focos limitados o demorar la diseminación para ganar tiempo a fin de implementar medidas preparatorias, incluyendo el desarrollo de vacunas.
Fase 5 Núcleos crecientes pero la transmisión humano a humano todavía localizada, sugiriendo que el virus está adaptándose mucho mejor a los humanos, pero todavía no es totalmente transmisible. **(Riesgo importante de pandemia)**	Maximizar esfuerzos para contener o demorar la diseminación, para evitar una posible pandemia y ganar tiempo para implementar medidas de respuesta a la pandemia.
Pandemia	
Fase 6 Transmisión interhumana eficiente y sostenida	Minimizar el efecto de la pandemia

PATOGENIA

INTRODUCCIÓN GENERAL A LOS ASPECTOS VIROLÓGICOS

¿Qué es un virus?

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

¿Por qué se denomina "influenza"?

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

¿Qué es el virus *Influenza*?

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

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

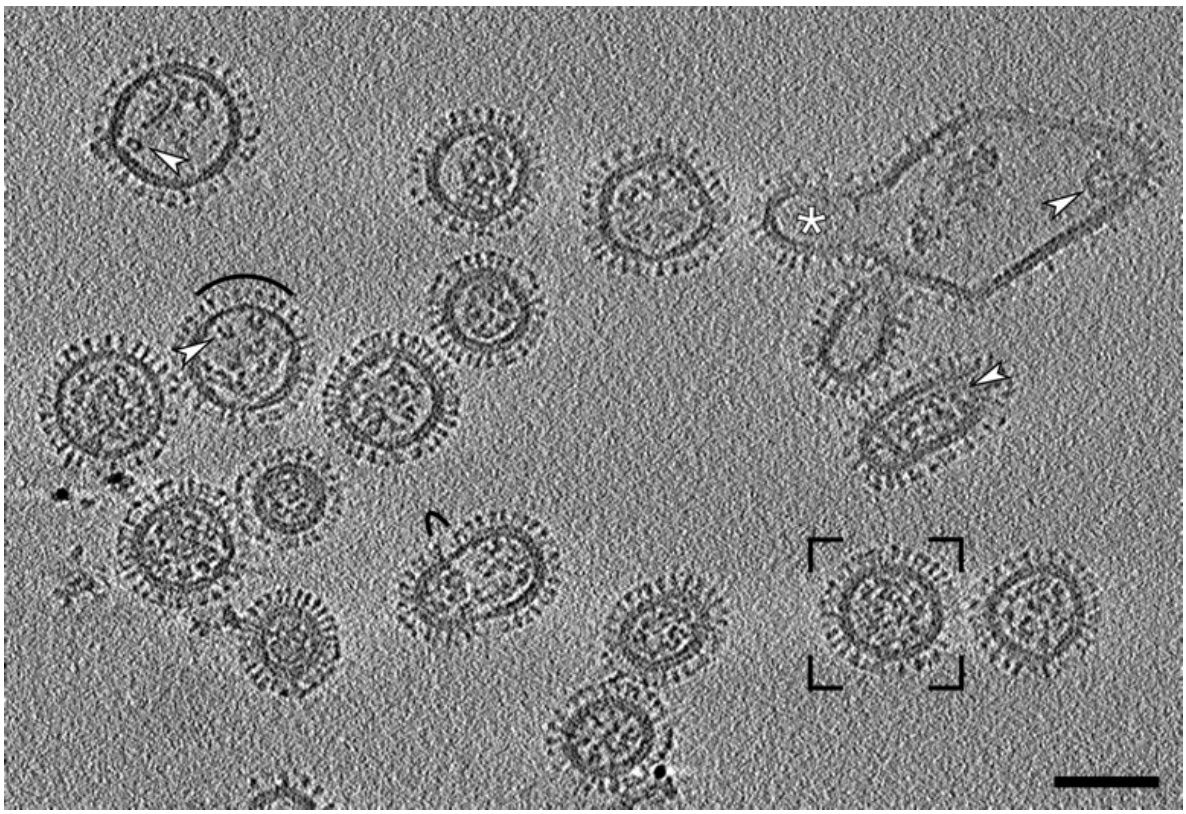


Figura 2. Sección obtenida mediante tomografía crioelectrónica correspondiente a un campo conteniendo partículas de virus *Influenza*. Las flechas blancas indican ribonucleoproteínas (RNP) típicas del virus. Los arcos negros indican áreas de la capa de matriz con zonas que exhiben gaps o una menor densidad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

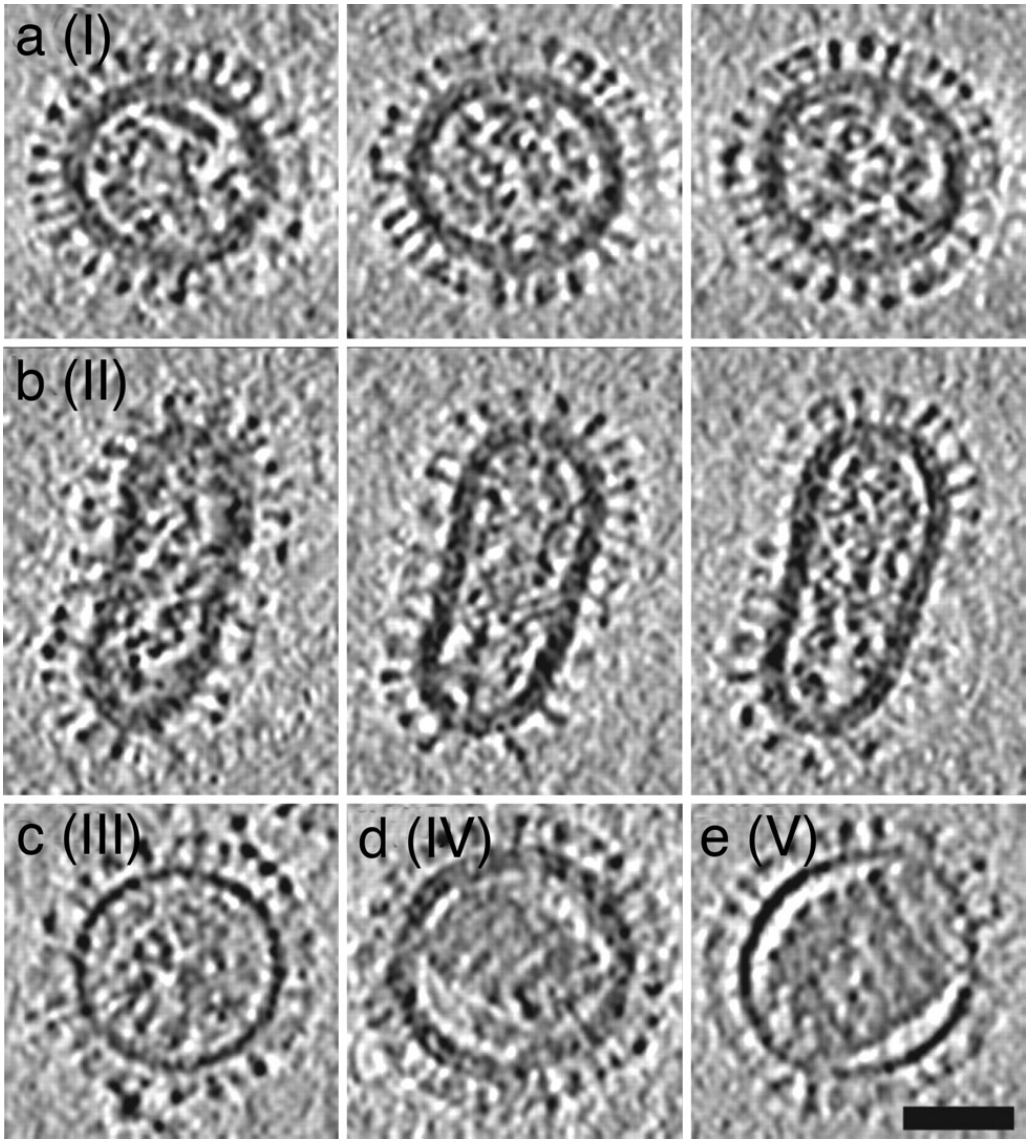


Figura 3. Pleomorfismo de las partículas del virus *Influenza.* El panel "a" corresponde a la imagen recuadrada en la Figura 2. La barra horizontal indica 50 nm. Fuente: Harris A. *et al*. PNAS 2006, 13: 19123-7.

¿Qué viabilidad tiene el virus?

El virus *Influenza* es relativamente lábil, permaneciendo viable unas pocas horas a temperatura ambiente. Estudios previos con el virus de la gripe estacional, demostraron que puede permanecer con capacidad infectante durante un lapso de 24-48 h en superficies no porosas como el acero inoxidable y el plástico, y hasta 12 h en la ropa, papel o pañuelos descartables de dicho material. Los virus de la gripe pueden transferirse con éxito a las manos aún después de 24 h de haberse contaminado la superficie con la que se las pone en contacto.

¿Qué condiciones favorecen la viabilidad de los virus de la gripe?

La viabilidad del virus *Influenza* es favorecida por las condiciones de frío y baja a moderada humedad, lo que se asocia a una mayor transmisión en los meses de invierno.

¿Cómo se inactiva el virus *Influenza*?

La desecación lo inactiva, al igual que el alcohol, los detergentes, y las condiciones de acidez o alcalinidad de los medios líquidos. El hervor de agua con detergente durante por lo menos 5 minutos inactiva al virus, lo que es sugerido para el tratamiento de utensilios o vajilla de cocina potencialmente contaminados. En caso de utilizar agua lavandina (solución acuosa de hipoclorito de sodio) sobre superficies inanimadas (como pisos o azulejos), se aconseja hacerlo con la dilución mínima para obtener una solución de 3 g/l de cloro activo, según instrucción de cada fabricante (aproximadamente, equivale a diluir 1 parte de agua lavandina común en 9 partes de agua, o 1 parte de agua lavandina concentrada en 19 partes de agua). No debe mezclarse la lavandina con detergentes. Dado que la luz acelera la descomposición de las soluciones de lavandina, se recomienda el uso de recipientes opacos para su almacenamiento. Dado que el tenor de cloro activo de las aguas lavandinas tradicionales debe cumplir la Res. S. I. y C. Nº 364/91, se informa que de las 9 marcas analizadas por el INTI (Instituto Nacional de Tecnología Industrial) en mayo de 2008, cumplieron la normativa sólo 4 (Querubín Clásica x 2 l, Ayudín Concentrada x 1 l, El Coloso Básica x 1 l, y Clean Line Tradicional x 1 l).

¿Qué implicancia tiene la viabilidad viral para la transmisión?

Si bien la viabilidad es limitada con respecto a otros virus, el agente de la gripe estacional y el nuevo virus emergente *Influenza* A (H1N1) de origen porcino (virus pandémico *Influenza* A H1N1/09) pueden no sólo transmitirse mediante los aerosoles formados al toser y/o estornudar un individuo infectado, sino también mediante el mero contacto con superficies contaminadas muy diversas (por ejemplo, teléfonos, manijas de puertas, canillas, o teclados / ratones de computación, elementos de sujeción en el transporte público, etc.) con las que están en contacto múltiples usuarios, utensilios o fómites de enfermos, o aun al estrechar las manos contaminadas de otro individuo. De allí la importancia y efectividad del lavado frecuente de manos durante 20 a 30 segundos con agua y jabón, o con alcohol-gel.

CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LOS COMPONENTES DEL VIRUS *INFLUENZA*

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

Tabla 3. **Relación entre los segmentos del genoma a ARN viral y las proteínas codificadas por *Influenza* tipo A.**

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

		receptores celulares de ácido siálico, por lo que determina el rango de especie
• 5	• NP (nucleoproteína)	• Protege el material genético viral en la célula • Transporta el ARN viral al núcleo • Colabora con la actividad de la PA
• 6	• NA (neuraminidasa)	• Libera las partículas virales de sustancias mucoides y permite el egreso viral de la célula, por lo que está implicada en la transmisibilidad viral
• 7	• M1(proteína de matriz 1) • M2 (proteína de matriz 2)	• Promueve la interacción entre la nucleocápside y la envoltura viral • Actúa como canal iónico de transmembrana permitiendo la acidificación viral necesaria para proseguir la infección intracelular
• 8	• NS1 (proteína no estructural 1)	• Inhibe la actividad antiviral inducida por el sistema Interferón, al impedir el reconocimiento celular del ARN viral por el "sensor" celular RIG-1 (limitando la inducción de aquél), y al bloquear la actividad de la proteínas celulares PKR y CPSF30 • Regula la transcripción / replicación viral • En las cepas del nuevo virus emergente A(H1N1) se sintetiza como péptido truncado inactivo en

	• NS2 / NEP (proteína no estructural 2 / proteína de exportación nuclear)	su interacción con otras proteínas • Se asocia al transporte de nucleocápsides hacia la membrana citoplasmática (junto a M1)

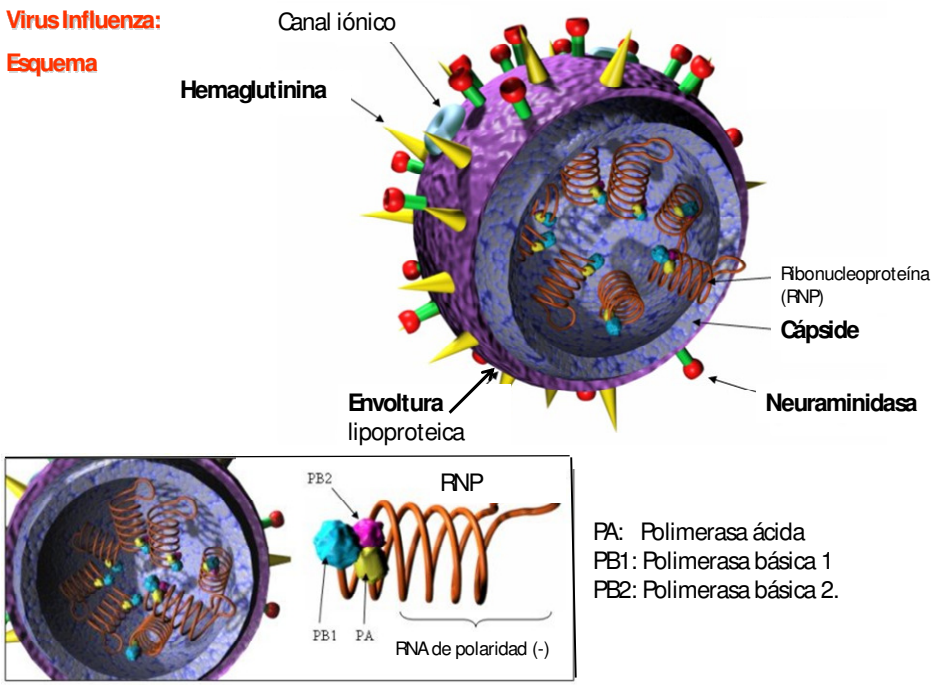


Figura 4. Esquema que representa al virus *Influenza* y a sus principales componentes.

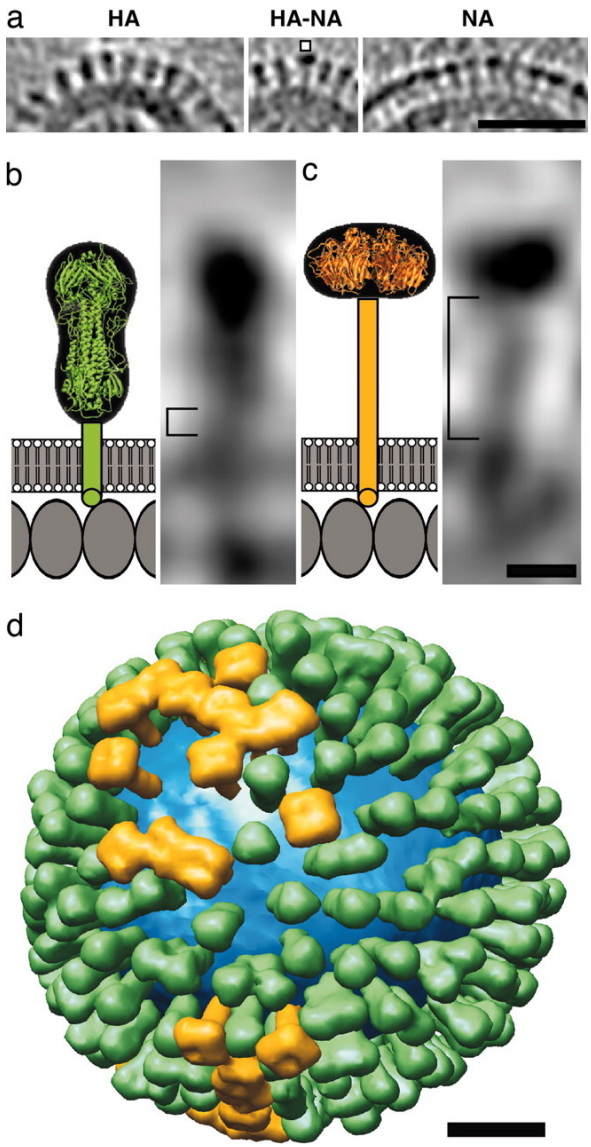


Figura 5. Distribución de las hemaglutininas (HA) y neuraminidasas (NA) en la superficie del virus *Influenza*, según su disposición espacial. Se observa un grupo de hemaglutininas (panel "a", a la izquierda), una molécula de neuraminidasa en un grupo de hemaglutininas (panel "a", al centro) y un grupo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

La Figura 6 muestra la historia genética completa del nuevo virus pandémico *Influenza* A H1N1/09.

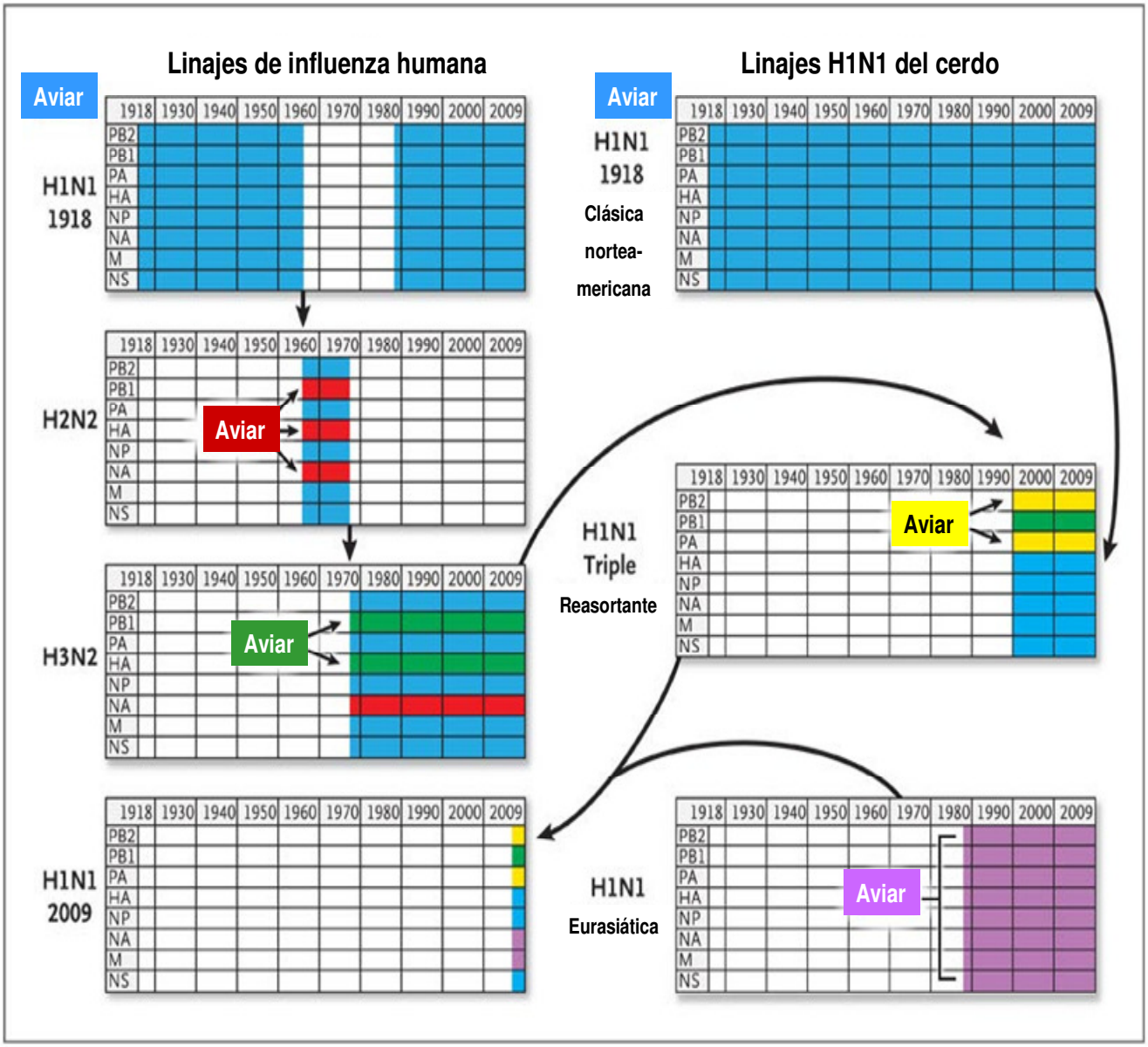


Figura 6. El diagrama muestra la historia genética completa de la nueva cepa pandémica. Cada uno de los cuadros muestra la composición de un linaje viral particular a lo largo del tiempo. En cada cuadro los segmentos genómicos se muestran a la izquierda, y las fechas desde 1918 hasta 2009 en la parte superior. Los colores representan el origen aviar y la historia de cada segmento genómico en cada linaje viral. Las reasociaciones genómicas que dieron origen a las cepas H2N2 y H3N2 de influenza A se muestran a lado izquierdo del diagrama, junto con las cepas humanas H1N1 o sus descendientes. Las cepas virales porcinas de influenza A (H1N1) se muestran en el lado derecho del diagrama. Modificado de Zimmer SM, Burke DS. Historical Perspective -- Emergence of *Influenza* A(H1N1) Viruses. N Engl J Med 2009, Jun 29.

Características estructurales y funcionales del virus *Influenza* tipo A subtipo H1N1 de origen porcino (virus pandémico *Influenza* A H1N1/09)

Las Figuras 7 y 8 muestran la representación esquemática del genoma del virus y su aspecto al microscopio electrónico, respectivamente.

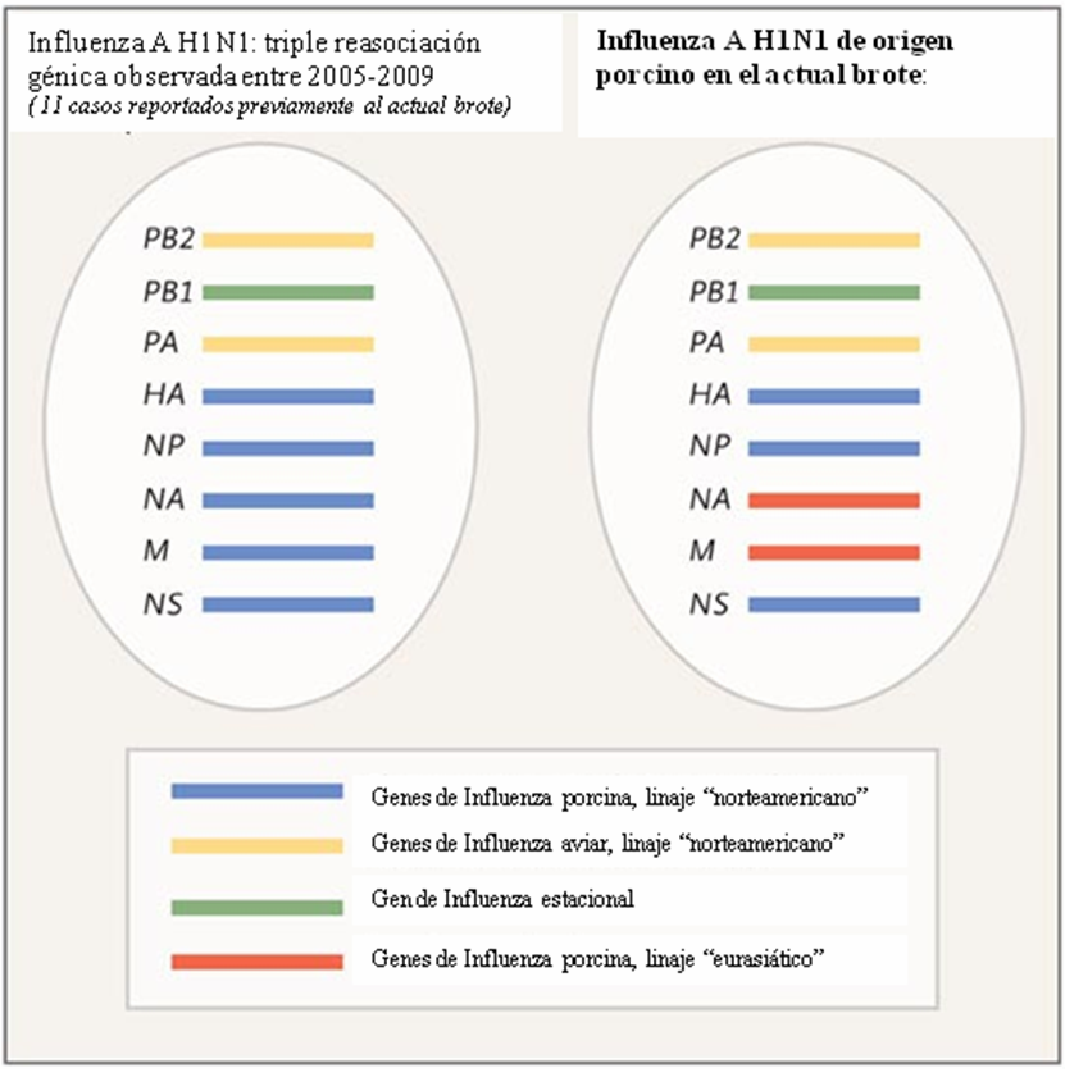


Figura 7. Virus *Influenza* A(H1N1) de origen porcino causante del actual brote. Composición genética.
Imagen adaptada de la publicada en la revista *The New England Journal of Medicine*. www.nejm.org May 7, 2009 (10.1056/NEJMoa0903810).
PB2: polimerasa básica 2, PB1: polimerasa básica 1; PA: polimerasa ácida; HA: hemaglutinina, NP: nucleoproteína; NA: neuraminidasa; M: matriz; NS: proteína no estructural. Obsérvese la reasociación de genes provenientes de virus Influenza porcino (dos linajes diferentes), aviar y humano.

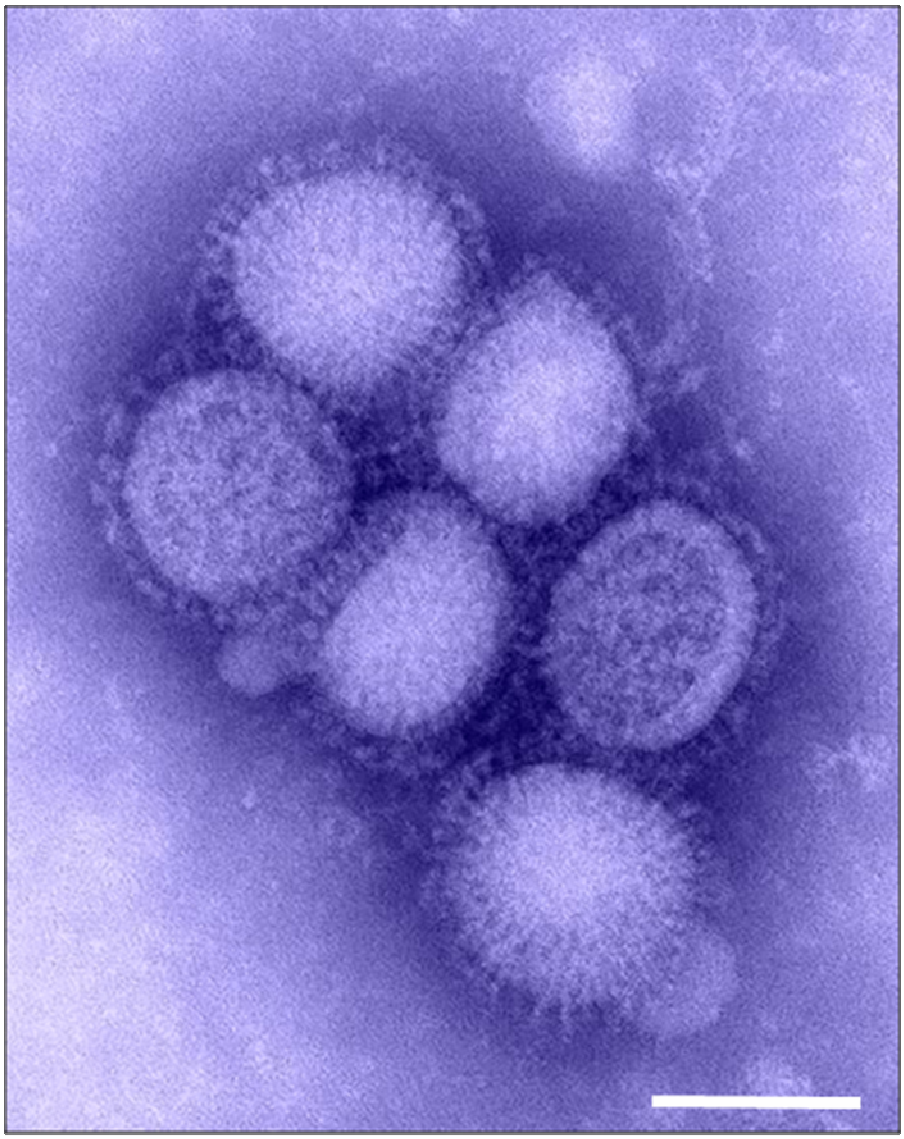


Figura 8. Virus pandémico *Influenza* A H1N1/09. Fuente**:** CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*, EE.UU.). Se observan partículas ovales o esféricas con espículas correspondientes a la expresión en su superficie de moléculas de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA). La barra blanca indica 100 nm.

El nuevo virus causante del brote 2009 inicialmente detectado en México y luego en EE.UU. es la resultante de la reasociación de segmentos de ARN de virus *Influenza* de origen porcino, aviar y humano (Figura 6). A su vez, el origen porcino de 5 de dichos fragmentos es diverso: 3 de ellos están emparentados con el linaje "norteamericano" y otros 2 con el "eurasiático" (Figura 7). No se conocen antecedentes de que este nuevo virus haya circulado alguna vez en humanos o animales. Se ha establecido que el virus ha penetrado en la población humana varios meses antes de la detección del brote en México.

La secuencia de aminoácidos de la hemaglutinina (H1) de *Influenza* A(H1N1) de origen porcino difiere sustancialmente de la correspondiente a cepas de Influenza estacional circulantes en 2008 (también de la "familia" H1) y consiguientemente, también diferente de la hemaglutinina H1 incorporada a la actual vacuna en uso para humanos. A modo de ejemplo, estimaciones preliminares documentaron un 27,2% de cambios al compararse la cepa emergente A/California/08/2009 (H1N1) con la de la cepa estacional A/USA/WRAMC-1154048/2008 (H1N1). En modo análogo, la secuencia aminoacídica de la neuraminidasa exhibe un 18,2% de sustituciones con respecto a la de cepas circulantes en 2008. Estos cambios tan importantes se encuadran entre los denominados cambios "mayores", aun cuando el virus sigue perteneciendo al subtipo H1N1 de virus. Los cambios observados en la hemaglutinina del nuevo virus están concentrados en los 5 sitios antigénicos (A-E) responsables de inducir anticuerpos neutralizantes; además el sitio C exhibe la sustitución aminoacídica Asp277Asn (ácido aspártico→asparagina en la posición 277 de la hemaglutinina) que "introduce" un nuevo sitio de glicosilación que podría "enmascarar" dicho determinante antigénico (Figura 9).

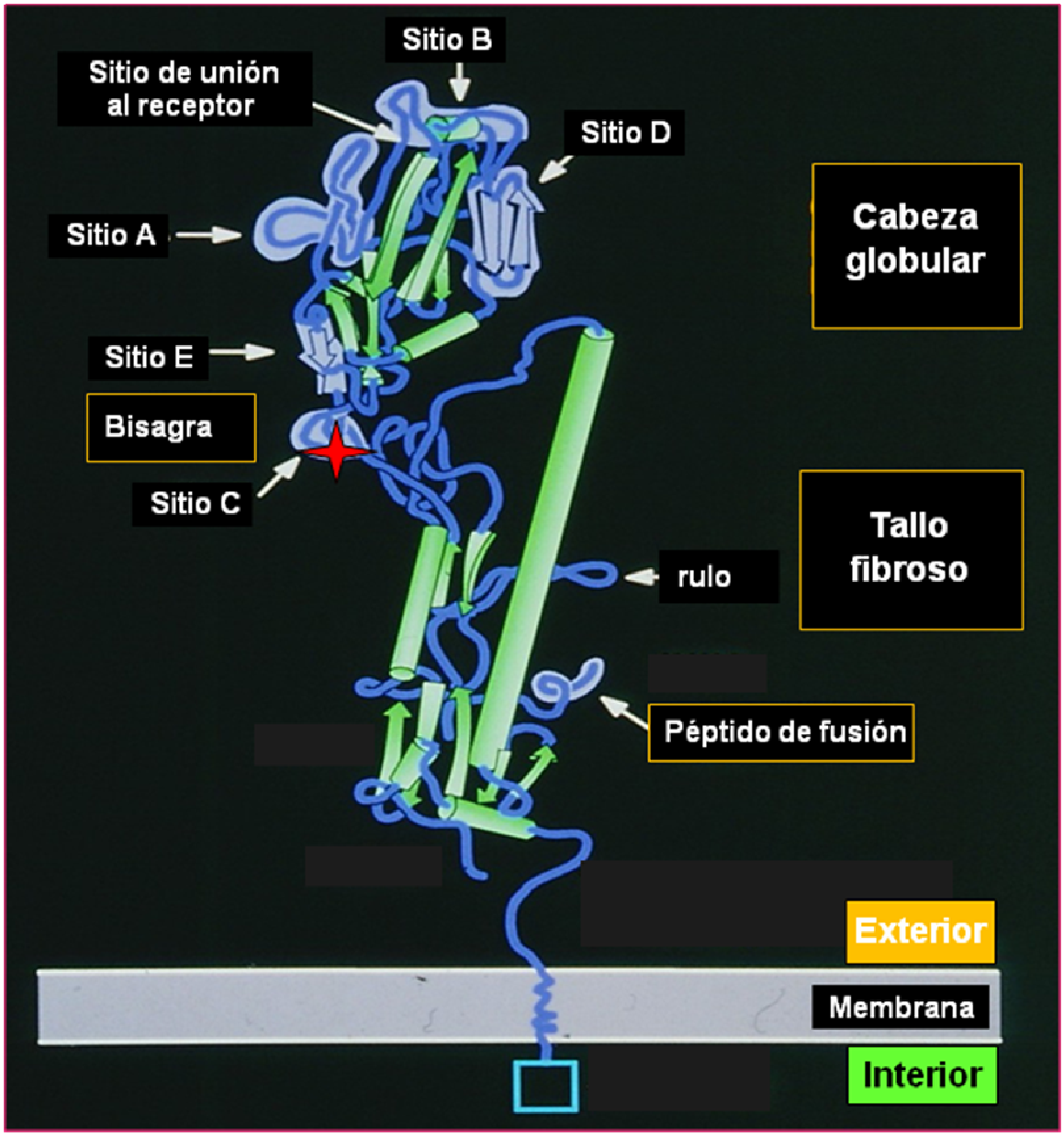


Figura 9. Esquema de un monómero de hemaglutinina insertado en una membrana exhibiendo los sitios antigénicos A-E. La estrella pintada en rojo indica el nuevo sitio de glicosilación dentro del sitio antigénico C debido a la sustitución Asp→Asn en la posición 277.

La hemaglutinina del nuevo virus es también distinta de la que produjo la pandemia de 1918, a pesar de que ambos virus pertenecen al mismo tipo (A) y subtipo (H1N1), difiriendo en un 18% de sus respectivas secuencias aminoacídicas. El último cambio mayor de virus de la influenza humana había ocurrido en 1968 (H3N2). El virus de la influenza aviar tipo A subtipo H5N1 ha producido hasta el momento un muy restringido número de casos asociados a la transmisión interhumana.

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

Los datos iniciales y provisorios del nuevo virus H1N1 de origen porcino indican que la proteína PB1-F2 (uno de los factores de virulencia; ver Tabla 3) no sería funcional debido a mutaciones que generan codones de terminación dentro del marco de lectura, lo cual produce un péptido truncado. Los datos de resistencia al oseltamivir de las cepas de *Influenza* A (H1N1) emitidos por la OMS el 19 de marzo de 2009, no corresponden al virus emergente actual sino a las cepas de *Influenza* estacional circulantes en ese momento en todo el mundo que ostentan la misma denominación de su hemaglutinina (H) y Neuraminidasa (N). La primera excepción a lo dicho precedentemente se informó el 29 de junio de 2009, ya que se ha detectado en Dinamarca el primer caso de resistencia al oseltamivir del nuevo virus *Influenza* A (H1N1) de origen porcino (mutación H275Y, donde el aminoácido histidina en la posición 275 de la neuraminidasa viral es reemplazado por tirosina), Entre el 2 y 3 de julio, se han detectado otros 2 casos de resistencia a dicho antiviral en Japón y Hong Kong, respectivamente. Dicha mutación no se ha detectado en contactos cercanos a los tres pacientes. La OMS declaró el 8 de julio que luego de que la Red de Vigilancia Global de Influenza para la resistencia antiviral hubo analizado alrededor de 1000 cepas del virus pandémico sin detectar dichas mutantes, no existen evidencias de que se hubiera producido una amplia diseminación de la resistencia al oseltamivir.

ALGUNOS ELEMENTOS PREVIAMENTE CONOCIDOS DE LA PATOGÉNESIS MOLECULAR DE LA INFECCIÓN POR VIRUS *INFLUENZA* ESTACIONAL (H1N1 Y H3N2) E *INFLUENZA* AVIAR (H5N1) Y SU POTENCIAL RELEVANCIA (POR EXTRAPOLACIÓN Y COMPARACIÓN) ANTE LA INFECCIÓN POR *INFLUENZA* DEL TIPO A SUBTIPO H1N1 DE ORIGEN PORCINO (VIRUS PANDÉMICO H1N1/09)

Implicancias de la replicación viral

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

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

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

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

Al momento de elaborar este informe (11/7/2009) se ignora el comportamiento que tendrá el nuevo virus *Influenza* A(HIN1) de origen porcino en función de la actual circulación de cepas causantes de la influenza estacional por virus tipo A subtipos H1N1 y H3N2. También se

desconoce el comportamiento que el nuevo virus podría tener en un determinado hospedador ante la eventual coinfección con el virus aviar altamente patogénico *Influenza* tipo A subtipo H5N1.

Factores de virulencia y transmisibilidad

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

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

En la Tabla 4, se indican algunos elementos comparativos entre las características de las infecciones producidas por el nuevo virus Influenza A(H1N1) de origen porcino, con respecto a otros previamente caracterizados.

Tabla 4. Comparación preliminar y provisoria entre la infección por *Influenza* A(H1N1) de origen porcino y la producida por otros virus *Influenza* A.

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

*: hasta el presente (julio de 2009).
**: la mayoría de los casos exhibe un curso moderado, sin necesidad de hospitalización o cuidado médico, semejante a lo observado ante la gripe estacional, aunque en ciertas áreas se ha registrado un significativo grado de gravedad clínica, especialmente entre personas jóvenes, incluyendo individuos previamente sanos (~30%), otros con patologías subyacentes y mujeres embarazadas.

Aunque no se conocen con certeza todos los factores que determinan la patogenicidad (capacidad de producir enfermedad) y virulencia (gravedad de la enfermedad) del virus *Influenza*, se puede afirmar que algunos de *ellos* se asocian a un amplio tropismo tisular y a la habilidad de replicar sistémicamente. En la Figura 10 se observa la imagen de un paciente afectado de neumonía causada por el virus *Influenza* A(H1N1) de origen porcino durante el brote ocurrido en México.

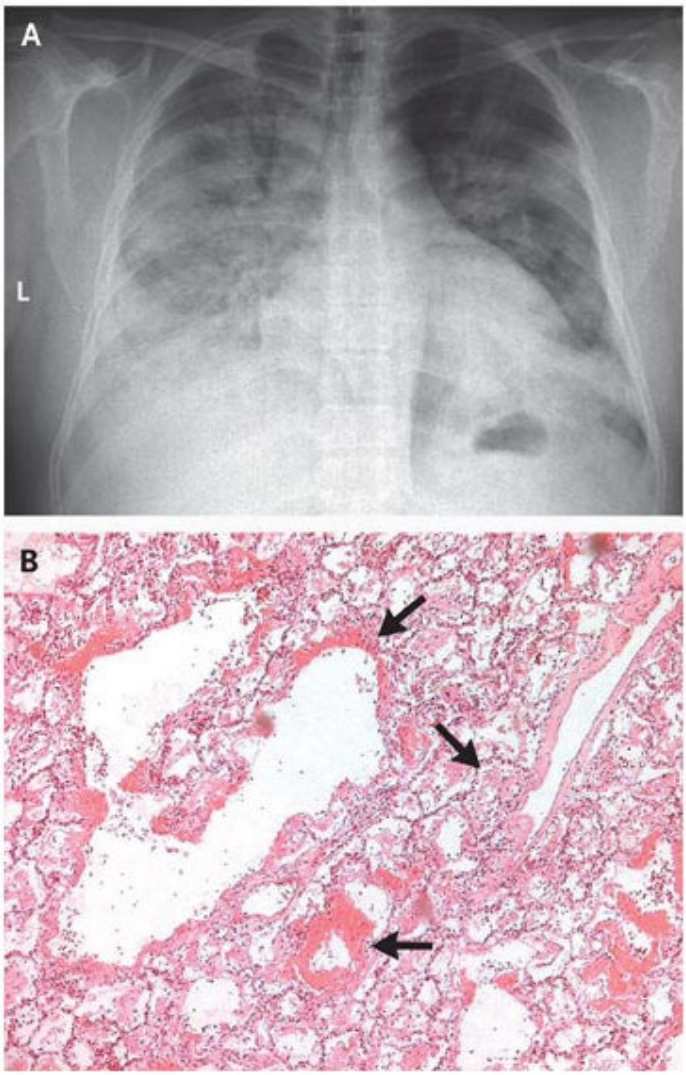


Figura 10. Compromiso pulmonar en un paciente infectado por *Influenza* A(H1N1). **A.** Radiografía que muestra opacidades bilaterales alveolares en la base de ambos pulmones, las que progresaron y se tornaron confluentes. **B**. Imagen histológica de un corte teñido con hematoxilina-eosina. Flecha superior: necrosis de las paredes bronquiolares; flecha media; infiltrados; flecha inferior: daño difuso alveolar con membranas hialinas prominentes. Los cultivos no evidenciaron infección bacteriana. El paciente finalmente falleció. Fuente: *New England Journal of Medicine*. Tomado del sitio web: www.nejm.org June 29, 2009 (10.1056/NEJMoa0904252).

A nivel molecular, uno de los determinantes de alta patogenicidad y virulencia es la presencia de una serie de aminoácidos básicos en el sitio de clivaje de la hemaglutinina (HA) de envoltura, lo que le permite utilizar las proteasas presentes en una extensa gama de tejidos y por ende replicar en ellos, provocando así una enfermedad más grave. Este evento conduce a las manifestaciones sistémicas graves observadas en pacientes infectados con el tipo A subtipo H5N1 de Influenza (uno de los agentes de la gripe aviar). Sin embargo, dichas secuencias aminoacídicas básicas no se encuentran presentes en las deducidas luego del secuenciamiento nucleotídico de las primeras cepas de virus *Influenza* A(H1N1) emergente en 2009.

La actividad de la NA es crítica para la liberación de las partículas virales que quedan adheridas a la membrana citoplasmática, lo que permite la diseminación viral al producirse el

egreso mediante brotación. Las polimerasas PB1 y PB2 (junto con la PA) participan en la constante evolución viral asociada a la emergencia de mutaciones nucleotídicas y a eventuales cambios aminoacídicos y de los correspondientes perfiles de glicosilación, debido a la falta de lectura de prueba inherente al complejo enzimático de polimerización. PB2 es también asociada a la diferente propagación viral y virulencia en distintos tejidos y especies: son críticos los residuos aminoacídicos en las posiciones 627 (Glu: ácido glutámico; ó Lys: lisina) y 701 (Asp: ácido aspártico; ó Asn: asparagina). Las cepas aviares altamente patogénicas H5N1 y el nuevo virus H1N1 de origen porcino (cuyo fragmento de ARN codificante de PB2 es de origen aviar según se observa en la Figura 6) exhiben Glu en la posición 627, mientras que las cepas de virus *Influenza* humanas hasta 2008 circulantes portaban Lys en dicha posición. El reemplazo Glu→Lys en las cepas aviares se asocia a la adaptación viral para propagarse en células humanas y determina una alta patogenicidad en mamíferos. Sin embargo, la presencia de Lys parecería no ser totalmente imprescindible, ya que otras mutaciones compensatorias pueden proveer la adaptación a mamíferos cuando dicha sustitución está ausente. Además, la presencia de Glu ó Lys en la posición 627 de PB2 determina, respectivamente, la menor o mayor capacidad viral de replicar a 33 ºC. Para una adecuada propagación viral interhumana a través del estornudo y la tos, es imprescindible que el virus pueda replicar en el tracto respiratorio superior, donde existe dicha temperatura**.** De allí que para una eventual propagación pandémica del virus Influenza H5N1 (cuyos genes son de origen aviar) se haya postulado la crucial presencia de la sustitución Glu→Lys en PB2 que posibilite la propagación tanto en el tracto respiratorio bajo como alto. La presencia del aminoácido Asp en la posición 701 de PB2 es habitual entre las cepas aviares de *Influenza*, así como en las inicialmente caracterizadas H1N1 de origen porcino. Su sustitución por Asn en la cepa A/duck-Guangxi/35/2001 (H5N1) se asoció a alta virulencia en ratones.

La proteína NS1 es la principal responsable de la evasión a la respuesta inmune que exhiben cepas previamente caracterizadas de *Influenza*. Sin embargo, la cepa emergente A(H1N1) de origen porcino, posee una señal de terminación en el codón 220, lo cual crea una deleción en el dominio peptídico que permite su interacción con otras proteínas (véase la Tabla 3, y la subsiguiente referencia en letra pequeña al pie de página*). Finalmente, es necesario destacar que la proteína PB1-F2 está codificada por muchas pero no todas las cepas del tipo A (especialmente su prevalencia es menor en las cepas humanas de *Influenza* A(H1N1) que circularon en los últimos años). PB1-F2 exhibe (entre otras) una localización mitocondrial que produce su alteración morfológica, la consiguiente pérdida del potencial de membrana mitocondrial y promueve la apoptosis de los macrófagos alveolares tipo 2. Esto afecta la respuesta inmune del hospedero al inhibir una adecuada presentación de los antígenos virales a los linfocitos T $CD4^+$ ayudadores (¡se impide el nexo entre la respuesta innata y la adaptativa!). Adicionalmente, la eliminación de dichas células, facilita la sobreinfección bacteriana. Todas las cepas que originaron

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

Dos grupos independientes de investigación (de Holanda y de EE.UU.) demostraron que la infección experimental de hurones con el nuevo virus *Influenza* A(H1N1) de origen porcino promueve mayor morbilidad que el virus *Influenza* estacional, asociada a una replicación viral aumentada que afecta el tracto respiratorio inferior de los animales, y -en algunos casos- otros órganos, como el intestino. Estos hallazgos experimentales podrían correlacionarse con las observaciones clínicas iniciales que documentan que en algunos pacientes con evolución grave se produce un compromiso pulmonar importante, así como -en algunos casos- manifestaciones extrapulmonares, como la diarrea.

Se reseñan algunas de las funciones de la proteína NS1 cuando es funcional.

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

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS INICIALES DE LA PANDEMIA

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

Según el CDC:

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

- ✓ Un caso probable de influenza de origen porcino es definido como aquel que corresponde al paciente que padece una infección respiratoria aguda semejante a la gripe (estacional) que es positivo para *Influenza* A, pero negativo en la amplificación de los genes de las hemaglutininas (previamente conocidas) H1 y H3 mediante RT-PCR.

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

Según el Ministerio de Salud de la Nación (Argentina) se define como caso sospechoso:

- Toda persona que presente enfermedad respiratoria aguda febril (>38 ºC) en un espectro que va de enfermedad tipo influenza a neumonía (Parte diario Nº 62, del 9 de julio de 2009).

Según la Dirección General de Redes del Departamento de Epidemiología del GCBA, se

define como <u>contacto estrecho:</u>

- Aquella persona que haya cuidado o convivido con un caso confirmado o sospechoso de influenza A (H1N1), o haya estado en un lugar donde existió una alta probabilidad de contacto con secreciones respiratorias de una persona infectada. Los ejemplos de contacto estrecho incluyen besos, abrazos, compartir elementos de cocina, exámenes médicos o cualquier contacto entre personas que hayan estado expuestas a secreciones respiratorias de los casos (distancia mínima 1,80m). (5º Alerta – Actualización del 7 de julio de 2009).

✓ Aproximadamente un tercio de los adultos >60 años de EE.UU. estudiados, exhibe anticuerpos neutralizantes con reactividad cruzada contra el virus emergente, aunque se desconoce si ellos confieren algún grado de protección. Al respecto, es intrigante la estrecha asociación entre la edad y la tasa de ataque observada en la comunidad de La Gloria, Pcia. de Veracruz, México (61% < 15 años), en los primeros 642 casos en EE.UU. (60% < 18 años). <u>Se ignora si ello se debe a un patrón de transmisión del virus o a un eventual grado de inmunidad en los mayores de 60 años</u>. En Argentina, según datos del Ministerio de Salud de la Nación publicados el 9 de julio de 2009, el 49,82% de los casos confirmados corresponde a pacientes menores de 20 años y un 9,9% a individuos de 50 o más años (Figura 11A y 11B).

✓ Al momento de elaborar este informe, resulta imposible aseverar la existencia de algún grado de inmunidad previa en la actual población humana mundial. Más aún, en opinión de algunos expertos, es posible la total inexistencia previa de dicha inmunidad a la infección por el nuevo virus, o en caso de existir -como consecuencia de un restringido grado de reactividad antigénica cruzada con otras cepas previamente circulantes- que la misma sea muy limitada.

✓ Debido a la masiva diseminación del virus emergente, el número de casos registrados por organismos de Salud Pública muy probablemente no refleja el total de los mismos. Los datos de Argentina sobre casos confirmados, podrían también estar subestimando el número real de individuos infectados, en función de que se ha modificado el criterio epidemiológico inicial para la realización de los estudios virológicos.

✓ En México, no se han registrado nuevos casos confirmados desde el 18 de junio.

✓ En Chile se ha documentado (al 12 de junio de 2009) que el 66% de los 2335 casos por entonces registrados correspondían a la población comprendida entre los 5-19 años. En la semana epidemiológica 21, el 90% de las cepas circulantes en ese país correspondían al nuevo virus A

(H1N1) de origen porcino. Datos del CDC (EE.UU.) mostraron que el 89% de los virus circulantes en EE.UU. en la semana epidemiológica 22 correspondían al mismo virus emergente.

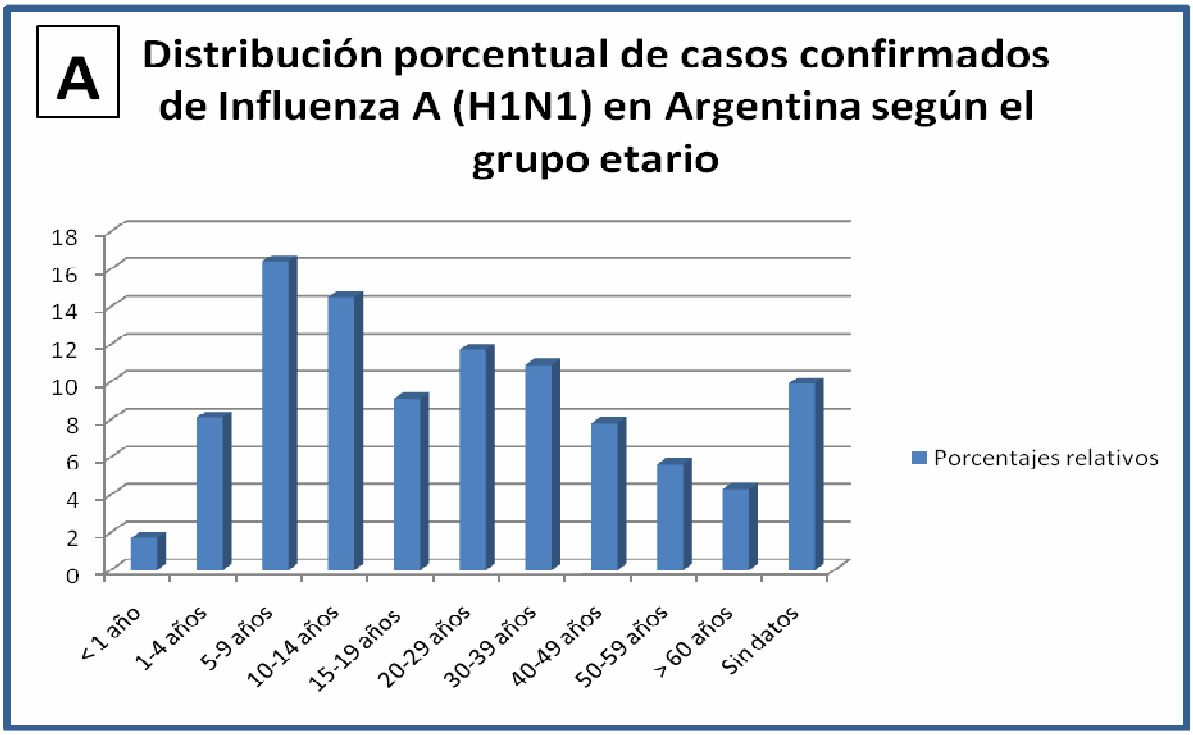
- ✓ Argentina comunicó el primer caso el día 7 de mayo de 2009. Desde el 16 de junio de 2009, en el área Metropolitana se modificó la situación epidemiológica pasando de la fase inicial de contención a la de mitigación. Por lo tanto, desde esa fecha, el Ministerio de Salud informa sólo los casos confirmados mediante estudios virológicos de laboratorio y no por cuadro clínico, al igual que lo hacen otros países con transmisión sostenida.

- ✓ El diagnóstico virológico tiene por objeto en esta fase la vigilancia epidemiológica y no la decisión terapéutica. Por lo expuesto, es incorrecto estimar la tasa de mortalidad a partir de los datos informados por el Ministerio de Salud de la Nación, ya que en dicho registro no se tiene en consideración el número total de individuos enfermos.

- ✓ El día 25 de junio el SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria) de Argentina informó que el 15 de junio se detectó en una granja de la provincia Buenos Aires el comienzo de un brote de influenza que afectó a 1676 cerdos sobre un total de 5586 (30%), no registrándose mortalidad. La enfermedad fue causada por el virus *Influenza* A (H1N1) de origen porcino. Dado que el contagio probablemente ocurrió a partir del contacto de los cerdos con 2 operarios que habían exhibido síntomas gripales, el episodio se constituyó en el segundo evento de transmisión humano-porcina del virus emergente informado a la fecha en el mundo. Desde el día 24 de junio los porcinos de dicho establecimiento no presentan sintomatología clínica ni novedades sanitarias adicionales, continuando la interdicción con restricción de movimientos al predio donde se detectó el virus hasta el momento de elaborar este informe.

- ✓ El día 30 de junio se declaró la emergencia sanitaria en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y en la provincia homónima.

- ✓ Estudios basados en modelos de simulación matemática aplicada al análisis de medidas sanitarias adoptadas ante el brote epidémico por *Influenza* A(H1N1) ocurrido en México, demuestran que el cierre de escuelas, conjuntamente con el aislamiento hogareño y el tratamiento antiviral constituyeron una eficaz barrera de contención para mitigar la diseminación viral.



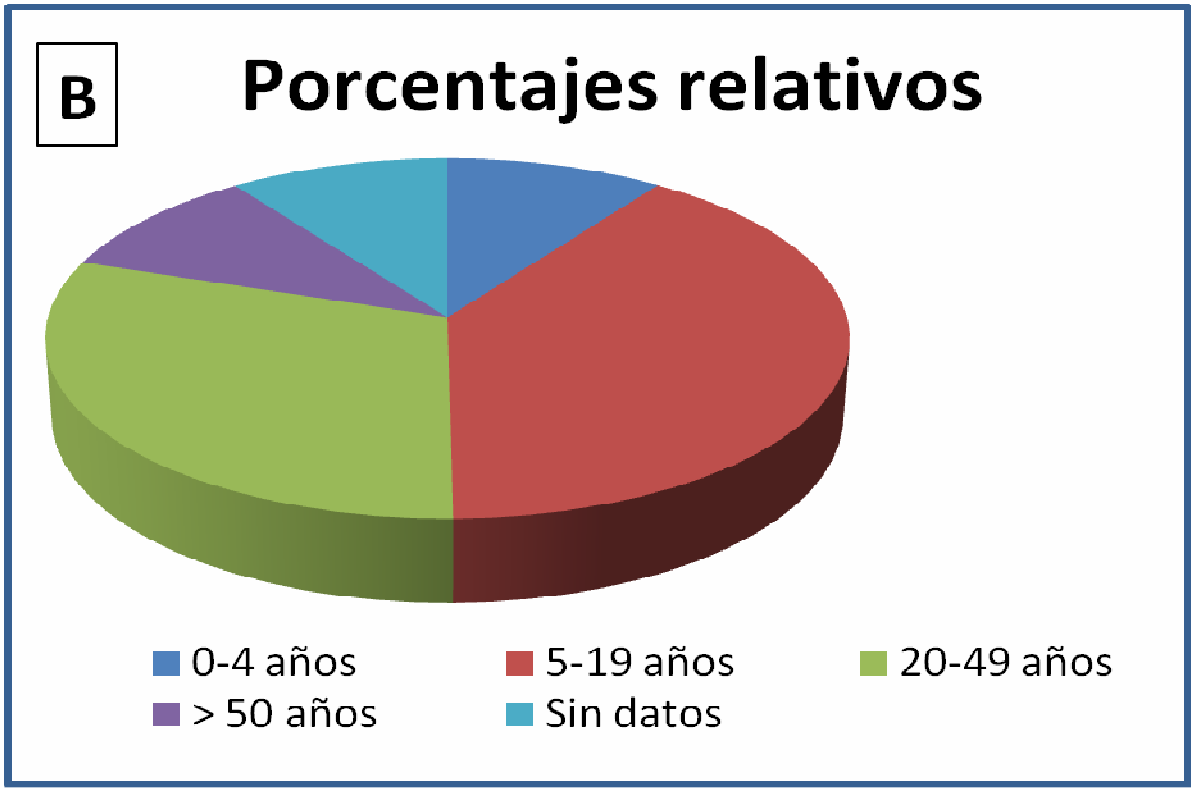


Figura 11 A y 11B. Distribución de casos confirmados de *Influenza* A(H1N1) en Argentina según el grupo etario afectado. Estos datos se actualizan periódicamente en el sitio http://www.msal.gov.ar/htm/site/default.asp. Fuente: Ministerio de Salud de la Nación; datos publicados el 9 de julio de 2009, en el Parte Oficial Nº 62 [n= 2677 casos confirmados].

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los datos relativos al nuevo virus *Influenza* A(H1N1) de origen porcino son preliminares y provisorios. Su próxima evolución en la naturaleza con respecto a su transmisibilidad, antigenicidad y resistencia a los antivirales (descripta para el oseltamivir en un primer paciente en Dinamarca y en días subsiguientes en otros dos de Japón y Hong Kong) es impredecible. Las observaciones epidemiológicas iniciales sugieren que su transmisibilidad es superior a la de los virus de la gripe estacional y equivalente al límite inferior del rango observado en pandemias anteriores. La virulencia demostrada por este virus emergente en las primeras semanas de penetración en la población humana es equivalente a la del virus causante de la pandemia de 1957, pero inferior al asociado a la pandemia de 1918. La circulación del virus en Argentina y en otros países del hemisferio Sur deberá seguir siendo cuidadosamente monitoreada en las próximas semanas / meses tras la llegada de la estación invernal. Se estima que las primeras vacunas específicas para el virus emergente estarían disponibles dentro de los próximos 2-4 meses. La gravedad de la pandemia podría ser diferente en distintas localizaciones geográficas si ocurriesen cambios en el virus, y/o según el espectro de vulnerabilidades subyacentes de cada grupo poblacional, y/o ante eventuales limitaciones del sistema de salud (Figura 12).

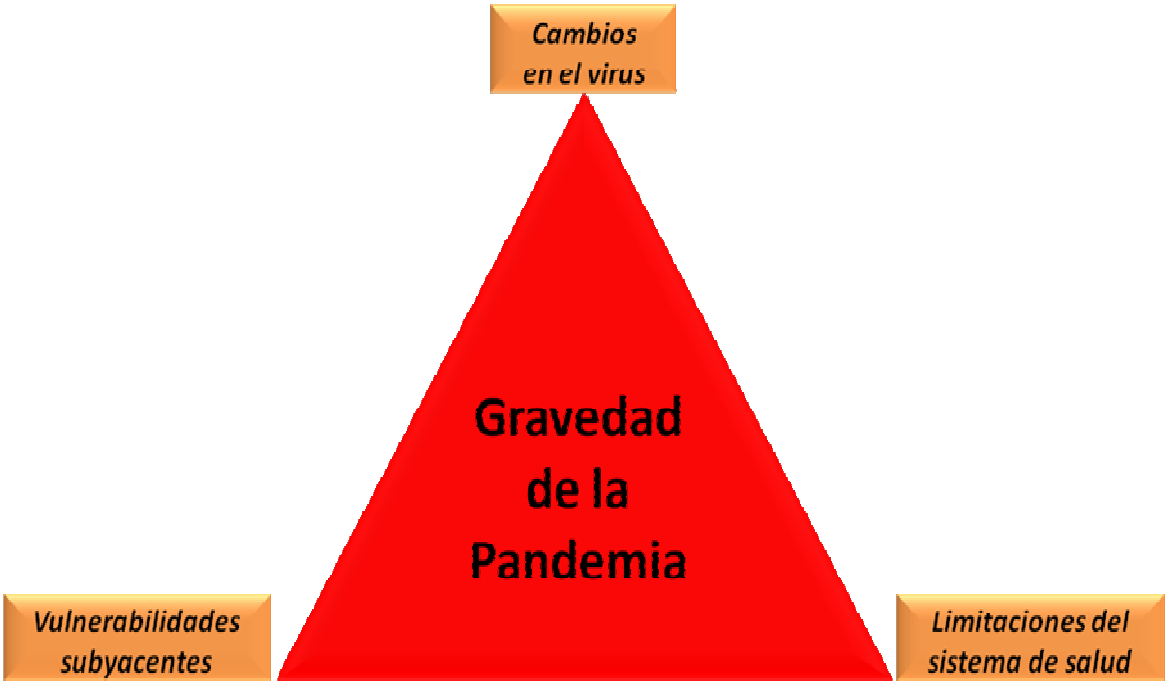


Figura 12. La pandemia por *Influenza* A(H1N1) de origen porcino ha sido provisionalmente categorizada como de gravedad moderada. Ello podría cambiar con el devenir del tiempo si uno o más de los tres factores observados en la figura lo hicieren.

LA NUEVA INFLUENZA A (H1N1) Y LOS PORCINOS

El 29 de mayo de este año, el laboratorio veterinario de Weybridge en Inglaterra informó los resultados obtenidos en infecciones experimentales realizadas en porcinos con la nueva cepa H1N1. La experiencia fue realizada en forma coordinada por varios laboratorios de la comunidad europea. Los estudios probaron que los porcinos podían ser infectados con la nueva cepa desarrollando una enfermedad muy similar a la de una influenza porcina clásica, o sea con letargo, fiebre, descarga nasal y ocular, tos e inapetencia. Animales sin infectar colocados en cercanía de animales infectados también enfermaron, y éstos -a su vez- infectaron a un nuevo grupo; pero el momento de mayor descarga viral se iba dilatando en cada ciclo yendo desde 3 días hasta 5-6 días en el último ciclo de transmisión. La histopatología fue similar a la de una influenza porcina tradicional, con el clásico compromiso pulmonar. Sin embargo, una publicación anterior (Sreta *et al*, 2009) comparó la cepa H1N1 emergente con otra H3N2 en cerditos de 22 días y comprobó que las lesiones pulmonares macro y microscópicas eran más graves con la nueva cepa H1N1.

Estos resultados -en cierta forma- no fueron sorprendentes porque era sabido que esta cepa viral tuvo su origen en el cerdo. Si bien se detectan en él huellas de orígenes pasados en virus humanos y aviares, este nuevo virus H1N1 es decididamente un virus de influenza porcino. Cambios accesorios le confirieron al mismo la habilidad de infectar humanos con cierta eficiencia. Quedaba por saber si el virus podía, de vuelta en el cerdo, desarrollar enfermedad y ser propagado, cualidades que se probaron en estas infecciones experimentales. Interesantemente, el virus no parece producir una enfermedad grave en estos animales aunque se debe tener en cuenta también que otros factores, como complicaciones bacterianas, están ausentes en este tipo de estudios. Además, si bien los cerdos no son genéticamente similares como un ratón Balb-c, son bastante más homogéneos que los humanos, y entonces distintas susceptibilidades con base genética no se pueden analizar. Sin embargo, un gran interrogante subsistía de estos estudios preliminares: ¿era el virus recuperado el mismo H1N1?

La pregunta ha sido parcialmente contestada, en dos casos recientemente registrados en Canadá y en nuestro país donde el virus, aparentemente, fue transmitido de humanos a cerdos los cuales reprodujeron la enfermedad tal como se había observado en los estudios de infección experimental. Sin embargo, la información suministrada no indica si se ha secuenciado todo el genoma de estos virus, con lo cual no se sabe exactamente cuán similares son con respecto al H1N1 original. Surge de esto un nuevo interrogante y se refiere a la capacidad que estos virus pueden tener infectando nuevamente a humanos. Esto es relevante no sólo por el caso actual del virus emergente H1N1, sino por otros virus reasociados que pudieren surgir en el futuro. Recordemos que el virus de la pandemia de 1918 se transmitió a porcinos con un cuadro muy semejante al observado en humanos. Desde entonces, descendientes de dicho virus han estado circulando tanto en dicha especie como en humanos (Zimmer y Burke, 2009).

¿Cuál será el rol del cerdo de ahora en más? Una de las conclusiones más escuchadas durante esta pandemia es la falta de monitoreo en las poblaciones porcinas de las cepas de *Influenza* circulantes, en cierta medida, debido a la poca relevancia que tiene la enfermedad homónima en dicha especie. De hecho, en la actualidad surgen datos que exponen esa situación: en el GenBank el número total de secuencias nucleotídicas de virus causantes de la influenza porcina es diez veces menor al número de secuencias de los virus que producen la influenza aviar y humana. Ahora emergen con mucha más importancia, publicaciones que no habían transcendido en el pasado, y que advertían que estos virus ya venían circulando en cerdos y, peor aún, que ya habían producido casos en humanos (Vincent *et al.*, 2009).

El mensaje es entonces, que se deben realizar permanentes monitoreos de poblaciones porcinas, sobre todo de aquellas en estrecho contacto con humanos. La cercanía entre especies es un factor importantísimo en esta cadena de eventos, por lo que debe prestarse mayor atención a evitar la convivencia entre humanos, aves y cerdos para disminuir las posibilidades de emergencia de nuevos virus con reasociación de su material genético.

CUADRO CLÍNICO

Actualmente sólo se conoce parte del espectro de las manifestaciones clínicas en humanos de la infección por el nuevo virus de la influenza A (H1N1). Los datos disponibles a la fecha muestran que el período de incubación es de 1 a 7 días, siendo el promedio de 3 días. La enfermedad se inicia en general bruscamente, con fiebre superior a 38 °C en la mayoría de los casos, cefalea, dolores musculares y articulares, odinofagia, rinorrea, tos seca, anorexia y malestar general.

En una serie de 642 casos ocurridos en EE.UU. entre abril y mayo de 2009 la fiebre y la tos fueron comunicadas en más del 90% de los casos. Un 25% de los pacientes presentaron síntomas gastrointestinales como náuseas, vómitos y diarrea. En la mayoría de los casos la fiebre resolvió espontáneamente en 48-72 horas, mientras que la tos y la astenia persistieron por un período más prolongado.

En un pequeño porcentaje de casos (aún no hay estudios a gran escala para determinar la incidencia verdadera), la enfermedad progresa rápidamente con dificultad respiratoria y cianosis. Estos pacientes requieren internación y en algunos casos asistencia respiratoria mecánica.

Se ha publicado una pequeña serie de casos de neumonías documentadas ocurridas en México en abril de 2009. No se detectó ningún otro agente patógeno, lo que sugiere que fueron, en su mayoría, neumonías virales primarias. El rango de edades fue de 9 meses a 61 años. La mortalidad fue del 38% y en el 60% de los casos los pacientes no presentaban ningún factor de riesgo. Los datos relevantes del laboratorio fueron -en un elevado porcentaje de los casos- linfopenia y elevación de la LDH y la CPK.

No se conoce aún la incidencia de exacerbaciones de bronquitis crónica o de las sobreinfecciones bacterianas (neumonías, sinusitis y otitis), que habitualmente se asocian a la gripe estacional y se han descrito en las pandemias anteriores de gripe.

No se han descrito aún otras complicaciones como miocarditis, pericarditis, encefalitis, o síndrome de Guillain-Barre.

La incidencia de estas complicaciones es actualmente motivo de estudio.

Se recomienda no administrar aspirina a los pacientes con sospecha de gripe, especialmente a los menores de 18 años por la asociación entre gripe y síndrome de Reye.

SOBREINFECCIÓN BACTERIANA

Laennec, a comienzos del siglo XIX, describió que la neumonía era una complicación frecuente de la influenza. Esta afirmación se basó en el cuadro clínico y el análisis anatomopatológico de los casos fatales.

Morens y colaboradores publicaron en 2008 un análisis de 109 series de autopsias de víctimas de la pandemia de 1918 y 58 casos adicionales; los autores concluyeron que la causa más frecuente de muerte fue la sobreinfección bacteriana. Sólo en un 4% de los casos no se documentó sobreinfección. Los

gérmenes mas comúnmente implicados fueron: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (estreptococo grupo A de Lancefield), *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus.*

Brundage y Shanks (2008) realizaron una extensa revisión de los datos epidemiológicos y llegaron a idénticas conclusiones.

No hay tantos datos disponibles sobre las pandemias de 1957 y 1968, pero sí múltiples estudios sobre causas de muerte en la gripe estacional. El 30% de las neumonías son causadas por coinfección viral y bacteriana, siendo la asociación más frecuente virus Influenza A y *S. pneumoniae.* Múltiples estudios han demostrado un incremento de las infecciones invasoras por *S. pneumoniae* asociadas a las epidemias de gripe que ocurren durante el otoño e invierno. *S. aureus* también ha sido implicado como una causa frecuente de neumonía asociada a influenza. Un estudio reciente sobre causas de muerte en niños con influenza documentada en EE.UU. durante la estación de la gripe 2003-2004, muestra que en un 25% de los casos se documentó coinfección bacteriana; entre ellos el agente más frecuente fue *S. aureus* y la mayoría de las cepas fueron resistentes a la meticilina. *H. influenzae* sigue siendo comunicado como agente causal de neumonía asociada a gripe en series recientes. El estreptococo grupo A es una causa poco frecuente pero muy grave de neumonía en la actualidad.

El síndrome clínico descrito en los pacientes afectados por la cepa H5N1 de origen aviar es diferente, al caracterizarse por una neumonitis grave que rápidamente progresa al *distress* respiratorio (insuficiencia respiratoria). La anatomía patológica muestra una alveolitis hemorrágica y estos hallazgos son compatibles con daño pulmonar producido por la infección viral.

Al presente, no hay datos suficientes sobre el comportamiento de la nueva cepa de virus *Influenza* A (H1N1). Los datos preliminares en estudios animales indican que tendría una virulencia mayor a la de la gripe estacional. Los datos en humanos son aun escasos; muestra una mayor tasa de ataque en los menores de 50 años, particularmente en los menores de 25 años.

Basados en las experiencias de pandemias previas y de la gripe estacional, se recomienda que a todos los pacientes gravemente comprometidos y/o que presenten evidencia de neumonía se les administre antibióticos cuyo espectro incluya a los gérmenes descriptos, y siguiendo las recomendaciones para tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad o intrahospitalaria, según corresponda, de los consensos ínter-sociedades argentinos.

REQUERIMIENTOS INSTITUCIONALES

ATENCIÓN DE PACIENTES CON SOSPECHA O CONFIRMACIÓN DE INFLUENZA A (H1N1)

Los requerimientos institucionales, para la atención de pacientes con esta patología, dependerán de la complejidad del centro y de la jurisdicción a la que pertenezca, debiendo articular sus acciones con los otros centros sanitarios de su región, ya sean éstos de mayor o menor complejidad.

En el contexto de una epidemia es recomendable que cada institución conforme un **"Comité de Crisis"** de carácter interdisciplinario cuyas funciones principales serán:

- **Realizar un relevamiento de recursos** humanos [identificando personal de riesgo para evaluar aislamiento domiciliario, por ej.: embarazadas, e inmunocomprometidos], edilicios e insumos disponibles.
- Establecer una **estrategia de comunicación** ágil y dinámica, con las autoridades de niveles superiores (externa) y con los trabajadores del centro (interna) para poder trabajar en forma coordinada y no desperdiciar recursos.
- **Capacitar al personal** desarrollando un plan para todo el equipo de salud que interviene en la atención de estos pacientes con el objeto de evitar que los mismos se conviertan en pacientes disminuyendo la capacidad de respuesta de los mismos.
- Crear un **sistema de Registro unificado** de pacientes e informes de hospitalización para monitoreo y seguimiento posterior.
- Diseñar **algoritmos diagnósticos, terapéuticos, de internación, y de eventual traslado** de pacientes a centros de mayor complejidad que deberán reevaluarse periódicamente de acuerdo a la evolución de la epidemia y las medidas sanitarias globales.

A) Medidas generales

Se recomienda que en los servicios de guardia y consultorios externos se oriente la permanencia de los pacientes con cuadros respiratorios en lugares definidos de la Sala de Espera.
Disponer de un Consultorio de Admisión en el área dispuesta para tal fin.

Consultorio de probable Influenza A:

- **Requerimientos edilicios:**
  Consultorio con ventana
  Lavatorio
  Fichero-fichas y/o computadora

Perchero

Recipiente de residuos patológicos

- **Insumos:**

Filtros HEPA (*High efficiency particular air*)

Antisépticos (alcohol-gel, etc.)

Toallas descartables

Camisolín descartable

Antiparras

Barbijo N95 (también denominado mascarilla o respirador para partículas N95)

Guantes no estériles y estériles

Estetoscopio, tensiómetro, termómetro

Medicación: antibióticos y antivirales (oseltamivir; y próximamente zanamivir))

- **Requerimiento de personal:** según las características y complejidad del centro sanitario.

Médico asistencial y radiólogo

Enfermera

Mucama

Camillero

El personal entrenado: debe usar barbijo N95 si realiza maniobras que generen aerosoles (intubación, aspiración de secreciones, toma de muestras respiratorias, fibrobroncoscopía); se recomienda el uso de barbijo común durante el turno de trabajo. Cambiar el barbijo común cuando se humedezca.

El personal de guardia debe usar ambo y no ropa de calle.

El personal general no requiere barbijo salvo que ingrese al consultorio o a la habitación del paciente.

B) <u>Toma y envío de las muestras</u>:

Las muestras deben ser tomadas en el consultorio de atención al paciente. Con el objetivo de evitar la diseminación del virus, se recomienda NO derivar pacientes al laboratorio para la toma de los materiales.

- Limitar el acceso al consultorio de examen; los visitantes o acompañantes deben permanecer a una distancia de al menos un metro de los pacientes respetando las medidas de bioseguridad que se le indiquen.
- La toma de muestras se debe realizar antes de administrar medicamentos antivirales.

Indicaciones: según medidas sanitarias vigentes o por indicación médica.

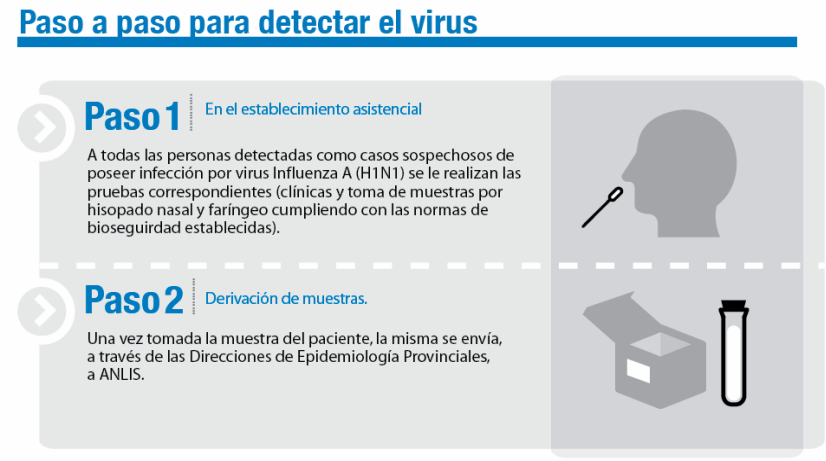
- Menores de 5 años de edad: aspirado nasofaríngeo (ANF) preferentemente dentro de las 72 horas del inicio de los síntomas hasta los 5 días;
- Desde los 5 años y adultos: hisopado nasofaríngeo o hisopado nasal (HN) y faríngeo (HF) combinado, preferentemente dentro de las 72 horas del inicio de los síntomas hasta los 5 días.
- En pacientes sin asistencia respiratoria mecánica se utilizarán hisopados nasales o fauciales (colocados en los medios de transporte para uso en Virología, procurando obtener células de la superficie de los pilares fauciales y amígdalas por hisopado riguroso). Para obtener muestras de las narinas se debe humedecer el hisopo con solución fisiológica estéril y luego rotarlo por las narinas en sentido horario y antihorario.
- En pacientes con asistencia respiratoria mecánica o en niños pequeños se utilizarán aspirados nasales, traqueales o broncoalveolares, obtenidos con los métodos quinésicos habituales con sondas de tipo nasogástrico, y colocados para su envío en doble bolsa de plástico dentro de un recipiente de plástico rígido con tapa a rosca y refrigerado.

Instrumental necesario para la toma de muestra:

- **Equipo de Protección Personal** [camisolín, barbijo N95, guantes de examinación, protección ocular y cobertores de pelo (gorro)].
- **Equipo para la toma de muestras** [hisopos estériles, bajalenguas y viales de recolección con Medio de Transporte Viral (MTV)]. Los hisopos deben ser de dacrón, rayón o de fibra de poliéster. Una vez recolectada la muestra debe incluirse en un tubo plástico estéril, de cierre hermético, con 2 ml de MTV o en su defecto, con 1 ml de solución fisiológica estéril (en caso de corta distancia de transporte, por ej.: conurbano). No deben utilizarse hisopos de algodón con palillo de madera, ni con alginato de calcio ya que inhiben el resultado de las pruebas. Los hisopos, los medios de transporte, y los triple envases de seguridad biológica están disponibles en algunos hospitales y en los Sistemas Integrados de Emergencias Sanitarias (SIES) u hospitales de referencia para ser retirados, por los efectores locales.
- **Triple envase de seguridad biológica:** para transportar las muestras se debe utilizar un *triple envase de seguridad* provisto por el Ministerio.

- **Agua y jabón antiséptico**. También se puede usar solución para manos a base de alcohol etílico al 70% (esto no es efectivo en manos visiblemente sucias).
- **Toalla individual** para el secado, no utilizar secador de manos.
- **Conservación en heladera.** Si las muestras van a ser enviadas al laboratorio dentro de los 2 días, deben ser mantenidas a 4 – 8 ˚C, y transportadas al laboratorio prontamente; de otra forma (más de 2 días) las muestras deberán ser congeladas a -70 ˚C hasta que sean transportadas al laboratorio de referencia. Se debe evitar el congelado y descongelado reiterado de las muestras (más de una vez). Cada material debe ser remitido con la correspondiente ficha clínico-epidemiológica (ver Anexo).

Figura 13



Todas las muestras de los pacientes que cumplan la definición de caso, deberán ser enviadas al INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Servicio Virus Respiratorios, a través de la Dirección de Epidemiología de su jurisdicción, o al lugar designado según jurisdicción y normas vigentes.

Secuencia sugerida de procedimientos cuando sólo se usan camisolín y guantes:

- realizar higiene de las manos
- colocarse el camisolín
- colocarse los guantes asegurándose que los puños estén completamente cubiertos
- realizar la tarea
- quitarse la bata y los guantes inmediatamente después de finalizar la tarea

Camisolín desechable:

- quitarse camisolín y guantes juntos, enrollar desde adentro hacia afuera, y eliminarlos en forma segura; y
- **realizar higiene de las manos.**

Camisolín reutilizable:

- quitarse los guantes, realizar higiene de las manos, quitarse el camisolín y colocarlo en las instalaciones para lavandería.
- **realizar higiene de las manos.**

ELEMENTOS CLAVE DE LA ATENCIÓN SANITARIA DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN RESPIRATORIA, INCLUIDA LA NUEVA GRIPE A (H1N1)

Durante la internación

Si el paciente requiere internación, mantenerlo en el consultorio cerrado hasta que se haya confirmado la disponibilidad de cama en el sector con posibilidad de aislamiento respiratorio.

- **Ubicación del paciente**

  Habitaciones individuales o cohortes (agrupaciones) de pacientes (con diagnóstico etiológico o clínico similar).

  Separación espacial entre las camas de la habitación $\geq$ 1m

- **Precauciones y aislamientos**

  Incrementar la higiene de manos.

  Implementar las precauciones estándares, indicadas en la atención de todos los pacientes, para evitar el contacto con sangre, secreciones o excreciones.

  Aislamiento de gota: uso de barbijo común.

  Aislamiento de contacto: uso de guantes y camisolín.

  Aislamiento de aerosoles. Uso de barbijo N95 en los procedimientos generadores de aerosoles:

  - intubación y procedimientos relacionados (por ejemplo, ventilación manual, aspiración);
  - resucitación cardiopulmonar;
  - broncoscopía;
  - cirugía y autopsia.

- **Higiene respiratoria y precauciones al toser**

  El personal, los pacientes y sus familiares se cubrirán la boca y la nariz con un pañuelo descartable al toser o estornudar, y luego limpiarán adecuadamente sus manos. (Ver Afiche en Anexo).

- **Equipo de atención de pacientes**

  Utilizar un equipo diferente para cada paciente, si no es posible lavar y desinfectar antes de utilizarlo con otro paciente.

- **Recomendaciones a familiares y visitantes**

  Familiares y visitantes verán limitada al mínimo su presencia para prestar apoyo al paciente y deberán adoptar las mismas precauciones que el personal de la salud, según le indique el personal de enfermería. No se recomienda el ingreso de familiares con factores de riesgo, incluidos niños y embarazadas.

- **Duración de los aislamientos frente a la gripe A (H1N1)**

  El tiempo que dure la internación.

- **Traslado del paciente dentro del Hospital**

  Para el traslado de pacientes con infección respiratoria el camillero requiere extremar la higiene de manos, usar barbijo común, camisolín y guantes.

  Limpiar la camilla con alcohol luego de cada uso.

  El ascensorista requiere extremar la higiene de manos con alcohol emulsión y usará barbijo común.

  El paciente debe ser trasladado siempre con barbijo común.

  Si requiere traslado para algún estudio (ej.: radiografía de tórax), comunicarse previamente con el servicio correspondiente para que implemente las medidas de protección adecuadas (frecuente lavado de manos, uso de barbijo, guantes, y asistir al paciente lo más sectorizadamente posible, a fin de evitar múltiples contactos aunque fueran ocasionales).

- **Prioridades de uso de los equipos de protección personal cuando las existencias sean limitadas**

  Los barbijos comunes/quirúrgicos y la higiene de las manos serán prioritarios durante la atención a todos los pacientes con gripe A (H1N1).

- **Vajillas y cubiertos**

  No compartirlos y lavarlos siguiendo el procedimiento habitual, con agua y detergente. Utilizar guantes de goma no estériles.

- **Lavado de ropa de cama y prendas de vestir**

Lavado según procedimiento habitual. No sacudir la ropa de cama ni las prendas de vestir durante las operaciones previas al lavado. Utilizar guantes de goma no estériles.

- **Higiene hospitalaria**

  Realizarla regularmente según las guías de higiene hospitalaria, con detergente y luego desinfectar con lavandina (ver página 14). Realizar higiene terminal al alta del paciente. Ventilar la habitación durante 6 horas antes de volver a ocuparla.

- **Alta del paciente**

  Cuando un caso sospechoso o confirmado de gripe A (H1N1) reciba el alta médica estando todavía en la fase infecciosa (es decir, mientras esté con síntomas y estén vigentes las precauciones frente a la infección), se informará a los miembros de la familia sobre las precauciones a adoptar en el hogar, es decir, aislamiento domiciliario hasta completar 10 días luego del inicio de los síntomas o hasta que éstos desaparezcan.

Tabla 5. MEDIDAS PARA ADOPTAR PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA NUEVA INFLUENZA A(H1N1).

Entorno o procedimiento	Medidas para el control de infecciones							
	Higiene de las manos	Guantes	Camisolín (*)	Barbijo común	Barbijo N95	Protección ocular (*)	Tos higiénica	Habitación individual o cohorte adecuadamente ventilada
Recepción	✓			✓			✓	
Examen físico /triaje	✓		✓	✓			✓	
Atención general de enfermería	✓		✓	✓			✓	
Recolección de muestras (sangre)	✓	✓	✓	✓		✓	✓	
Nebulización	✓		✓	✓				
Recolección de muestras (respiratorias)	✓	✓	✓		✓	✓		✓
Procedimiento que genera aerosoles	✓	✓	✓		✓	✓		✓

(*) Utilizar camisolín y protección ocular (antiparras) en todo procedimiento con riesgo de generar salpicaduras.

5º ALERTA NUEVO VIRUS INFLUENZA A (H1 N1) del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires. Actualización del 7 de julio de 2009.

Debe realizarse: **NOTIFICACIÓN OBLIGATORIA INMEDIATA** (de los pacientes que reúnan el criterio actual de caso sospechoso), al servicio de Promoción y Protección de cada hospital y/o al Departamento de Epidemiología de la CABA.

E-mail: rforlenza@buenosaires.gov.ar, epidemiologiacaba@buenosaires.gov.ar
pangeleri@buenosaires.gov.ar

En fines de semana y feriados: rforlenza@infovia.com.ar, pangeleri@intramed.net.ar

Para Consultas en días hábiles: 8-18h: TE: 4326-7174/ 4323-9028/ 4323-9000 int. 3309/3028.
Fax: 4323-9085/4326-7174.

En fines de semana, feriados de 8-23h y de 18-23h en días de semana: TE: 15-3-148-1409,
En horario nocturno: informar a Coordinación de SAME.

La información debe ingresarse (Py P / AP) en el Módulo C2 del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS-C2), utilizando como Evento de Notificación Obligatoria "INFLUENZA HUMANA POR UN NUEVO SUBTIPO DE VIRUS".

En forma diaria: se efectuará el ADELANTO DE NOTIFICACIÓN POR MAIL la siguiente información sobre el caso:

A- Apellido y Nombres
B- Edad / Fecha de Nacimiento
C- Sexo
D- DNI (Si posee)
E- Lugar de residencia(calle y Nº localidad)
F- Teléfono
G- Fecha de inicio de síntomas
H- Fecha de notificación
G - Cuadro clínico actual, tipo de asistencia.(CLÍNICA, UTI, ARM)
H.- Comorbilidades previas.
I.- Complicaciones

Además INCLUIR:

- Un informe de la evolución de los pacientes internados por Infección Respiratoria Aguda Grave
- La cantidad de egresos de los pacientes internados por Infección Respiratoria Aguda Grave, ya sea en condición de alta u óbito.
- Número de camas disponibles en Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos, de Pediatría y de Neonatología.
- Número de Respiradores disponibles para pacientes adultos y pediátricos.

Al alta del paciente se enviara por mail al Dpto. Epidemiología la FICHA EPIDEMIOLÓGICA COMPLETA

En forma semanal
El número de pacientes atendidos en forma ambulatoria con cuadros de Enfermedad Tipo Influenza, Bronquiolitis y Neumonía. (Agrupado en SNVS).

Otras consultas:

- Ministerio de Salud de la Nación, TE: 0800-222-1002

o ingresando a: www.msal.gov.ar

- INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malrán", TE: 4303-1804 ó 4301-7167 / 7189

o ingresando a: www.anlis.gov.ar

DIAGNÓSTICO DEL NUEVO VIRUS *INFLUENZA* A(H1N1)

Similar a A/California/4/2009.

El diagnóstico confirmatorio de las infecciones por el nuevo virus *Influenza* A(H1N1), se deberá realizar mediante RT-PCR en tiempo real a partir de una muestra respiratoria del paciente o a partir del cultivo viral.

Desde la primera detección del nuevo virus en la población humana a la situación actual, el comportamiento epidemiológico de este virus ha cambiado rápidamente. En nuestro país, en el área metropolitana y en el conurbano bonaerense, actualmente el virus circula ampliamente en la población, con elevada diseminación sobre todo en niños y adultos jóvenes, en edad escolar. El número de personas que entran en contacto con el virus se incrementa diariamente. En función de estos hechos el diagnóstico del nuevo virus causante de la influenza A(H1N1), se reserva para aquellos pacientes con infecciones moderadas o graves que requieran internación o que pertenezcan a los grupos de riesgo. Sin embargo, la estrategia planteada para limitar la diseminación del virus y evitar la progresión a cuadros graves, es tratar con oseltamivir a todos los pacientes descriptos.

El Ministerio de Salud de la Nación ha dispuesto la **descentralización del diagnóstico**, de acuerdo con las capacidades existentes en cada lugar.

http://www.msal.gov.ar/htm/site/pdf/fase-de-mitigacion.pdf

Provincias con capacidad de realizar ensayos de RT-PCR en tiempo real:

Estas provincias pueden confirmar resultados, notificar por epidemiología y/o SIVILA, y mandar a cultivo las muestras positivas al Centro Nacional de Influenza (CNI) que corresponda.

Estas capacidades al momento han sido reconocidas en las provincias de Santa Fe y en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA).

Provincias con capacidad de PCR convencional

Estas provincias pueden confirmar resultados como no tipificables que equivale a la nueva influenza H1N1 realizando:

- RT-PCR con cebadores oligonucleotídicos para *Influenza* A
- RT-PCR con cebadores oligonucleotídicos para H1 y H3 estacional

Estos oligonucleótidos son provistos por el Ministerio de Salud de la Nación.

Las muestras positivas se envían a cultivo al CNI que corresponda, y se notifican por epidemiología y/o SIVILA**.**

Provincias sin capacidad de realizar RT-PCR convencional

La inmunofluorescencia indirecta tiene una alta correlación, cercana al 90 %, con las muestras procesadas por RT-PCR en tiempo real (comunicación verbal de la Organización Panamericana de la Salud), no así la inmunofluorescencia directa.

Por lo tanto se puede hacer vigilancia estacional y tamizaje de ser necesario. En este caso enviar al CNI que corresponda los positivos de A y 10 % de los negativos.

Las muestras sospechosas de nueva influenza se mandan al CNI correspondiente y se notifican por epidemiología y/o SIVILA.

CNI de Buenos Aires: INEI - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"

Recibe muestras de la CABA y del resto del país no incluido en los otros dos CNI.

CNI de Mar del Plata: ANLIS - Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Juan H. Jara"

Recibe muestras de la Pcia. de Buenos Aires, excepto regiones 5ta., 6ta., 7ma. y B 11. Pcias. de Santa Cruz, Chubut, Río Negro y La Pampa.

CNI Córdoba: Instituto de Virología "Dr. Juan Vanella"

Recibe muestras de las Pcias. de Córdoba, Mendoza, San Juan, San Luis y La Rioja.

La **Dirección General de Redes y programas de Salud del Depto. de Epidemiología del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires,** en su 5° ALERTA NUEVO VIRUS INFLUENZA A/H1N1, ha dispuesto que en el ámbito de los hospitales de su jurisdicción el diagnóstico virológico se realice de acuerdo a las siguientes pautas:

EL diagnóstico de certeza será reservado sólo para PACIENTES INTERNADOS: se realizará (de ser factible), el estudio virológico de acuerdo con el grupo etario o la situación del enfermo. Las muestras deben ser tomadas antes de iniciar el tratamiento antiviral.

Se expresa además acerca de los métodos diagnósticos que serán utilizados en el **LABORATORIO VIROLÓGICO.**

Métodos diagnósticos:

✓ Métodos de tamizaje: inmunofluorescencia indirecta (IFI) o directa (IF).

✓ Métodos de detección de *Influenza* A en muestras negativas por IFI o IF: RT-PCR para el gen M protocolo de la WHO para detección de *Influenza* A.
✓ Método de detección de *Influenza* A(H1N1): PCR en Tiempo Real, protocolo del CDC.

● **Todos los laboratorios de virus respiratorios del GCBA** que efectúen pruebas de tamizaje, adecuarán los procedimientos para **procesar tanto muestras de pacientes pediátricos como de adultos del propio hospital o de hospitales GCBA próximos** que no cuenten con dichos método, y **remitirán aquellas muestras positivas para Influenza A para la confirmación de** Influenza A / H1N1 **a los laboratorios de referencia: Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez** (muestras pacientes hasta 15 años) y **Hospital de Enfermedades Infecciosas Francisco J. Muñiz** (muestras de pacientes mayores de 15 años).
Las muestras negativas se enviarán en casos a acordar entre laboratorios.

● La información de los resultados de estas muestras serán ingresados en forma diaria por el laboratorio que recibe inicialmente (emisor) la muestra, en el módulo SIVILA del SNVS (en forma individual para todas las muestras independientemente de los resultados obtenidos). El laboratorio de referencia correspondiente, ingresará al mismo módulo sus resultados. Con dicho módulo se podrá obtener el protocolo correspondiente desde el laboratorio emisor.

● En el momento actual, la capacidad operativa no permite recibir muestras de efectores que no pertenezcan al GCBA, en cuyo caso, estos deberán remitir las muestras a laboratorios privados homologados por el INEI-ANLIS Carlos G. Malbrán o a este último directamente.

Es importante remarcar las condiciones de bioseguridad que deben cumplirse en el laboratorio virológico en el momento del procesamiento de las muestras.
Los laboratorios de hospitales que tengan capacidad de diagnóstico por inmunofluorescencia deben contar con una cabina de flujo laminar nivel 2 (BSL-2) validada y con una centrífuga equipada con un rotor con tapa, para evitar cualquier derrame en el momento de la centrifugación. El manipuleo de las muestras, así como la preparación de las improntas debe realizarse, obligatoriamente, en condiciones BSL-2. En el caso del diagnóstico molecular por RT-PCR, el fraccionamiento de la muestra así como el agregado del reactivo para la extracción debe realizarse en cabina de flujo laminar BSL-2.

Inicialmente, el diagnóstico viral estuvo centralizado en el laboratorio de Referencia de Influenza para la OMS, del ANLIS-Malbrán., de acuerdo al algoritmo diagnóstico correspondiente a la versión 8 de junio de 2009, publicada en la página de dicha institución http://www.anlis.gov.ar/porcina/Algoritmo_8-6-09_CON_LOGO.pdf.

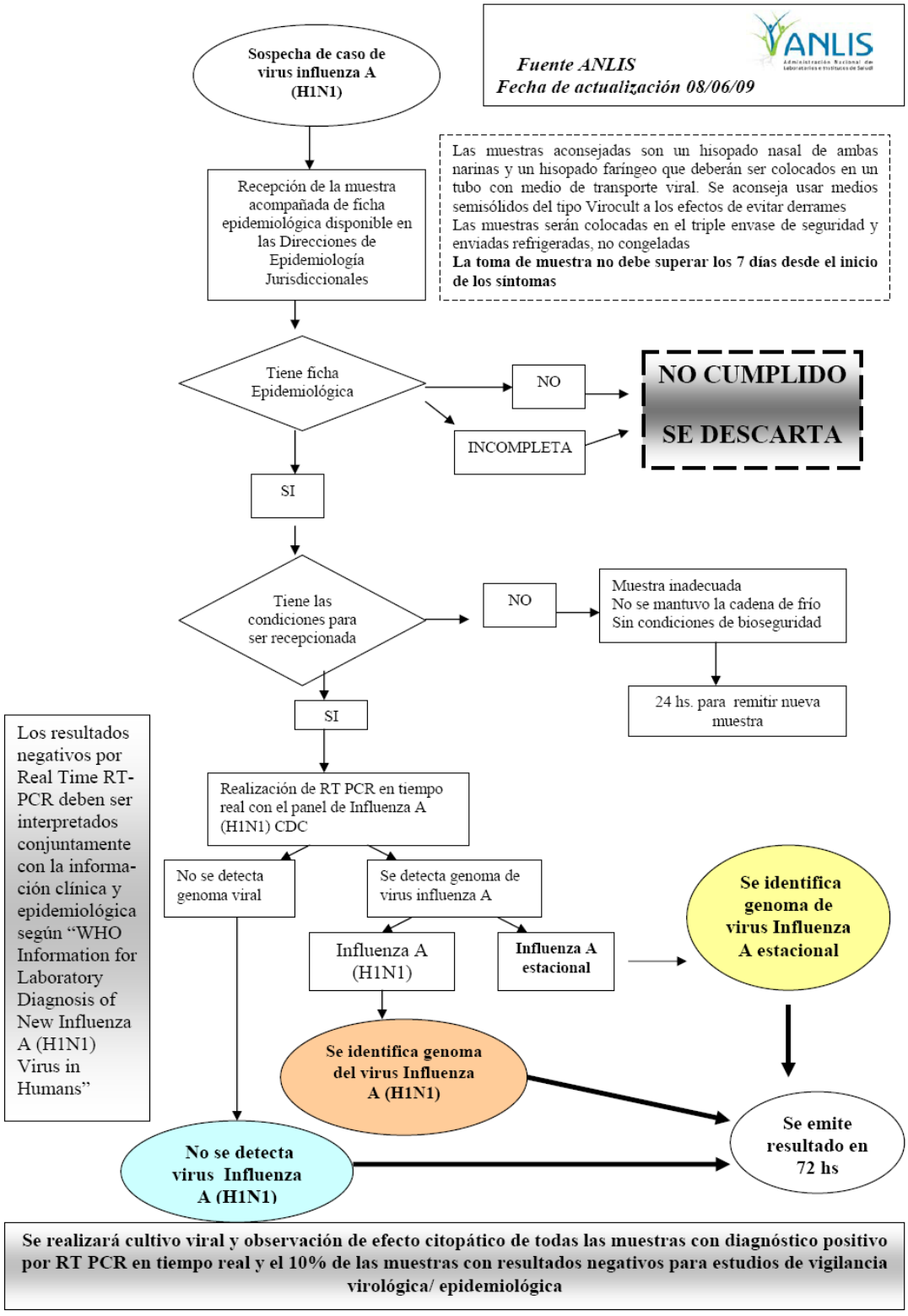


Figura 14. Algoritmo diagnóstico del nuevo virus *Influenza* A(H1N1) versión 08/06/2009.

DIAGNÓSTICO DEL NUEVO VIRUS *INFLUENZA* A(H1N1)

Muestras

Los materiales clínicos adecuadas para el diagnóstico virológico son todas las muestras respiratorias (hisopado nasal, hisopado faríngeo, hisopado nasofaríngeo, aspirado nasal, aspirado faríngeo, lavado broncoalveolar, esputo). Se recomiendan especialmente los **hisopados nasal y faríngeo**, por ser los materiales cuya recolección implica un menor riesgo para el profesional que debe realizarla, y porque el virus replica con altos títulos en las cavidades nasales y en la garganta.

Procesamiento de las muestras

El procesamiento de las muestras se debe realizar en los laboratorios que tengan niveles de bioseguridad tipo 3 (BSL3). La muestra recepcionada en el laboratorio y que cumple con los requisitos de una muestra válida (hisopo colocado en el MTV refrigerado, perfectamente identificada y acompañada de su ficha clínico-epidemiológica, ver Anexo), es procesada para el diagnóstico del nuevo virus. Por lo tanto, una vez ingresada al laboratorio se fracciona en varias alícuotas. Una de las alícuotas se utiliza para realizar el diagnóstico molecular, que es el método de elección para el diagnóstico del nuevo virus *Influenza* A (H1N1).

El **diagnóstico de certeza** del nuevo virus *Influenza* A(H1N1) se realiza mediante:

✓ ***Diagnóstico molecular:*** *RT-PCR en tiempo real o RT-PCR convencional*

El diagnóstico molecular es el recomendado por la OMS para la detección y caracterización del nuevo virus *Influenza* A(H1N1). Consiste en la detección del genoma viral (ARN) directamente en muestras clínicas o luego del cultivo de dichas muestras clínicas.

Las metodologías de detección molecular consisten en: RT-PCR en tiempo real,

o RT-PCR convencional y posterior secuenciación del producto amplificado. La RT-PCR en tiempo real puede ser positiva para influenza A y negativa para los subtipos convencionales. En este caso se debe confirmar la presencia del nuevo virus *Influenza* A(H1N1) con una RT-PCR específica. El tiempo aproximado para la obtención del resultado es de 24 h, pero el protocolo de la OMS indica repetir las determinaciones negativas con el fin de confirmar el diagnóstico, por lo que se requiere un tiempo adicional.

✓ ***Cultivo viral***

El aislamiento del nuevo virus *Influenza* A(H1N1) es diagnóstico de infección. Los resultados se pueden obtener entre los 7 y 10 días; por lo tanto no resulta útil para el manejo clínico del paciente. Un cultivo negativo no excluye la infección por el nuevo virus. Para la confirmación del diagnóstico se requiere el cultivo y secuenciación del genoma viral.

✓ ***Inmunofluorescencia indirecta (IFI)***

Esta técnica permite distinguir entre influenza A y B. Si da positivo para influenza A por esta metodología, ese paciente pasa a considerarse un caso sospechoso. No diferencia al nuevo virus del agente de la influenza A estacional. La técnica de inmunofluorescencia requiere calidad de muestra clínica y experiencia en la metodología del operador; la sensibilidad y especificidad de la técnica para este nuevo virus no se conocen aún. El resultado se obtiene en horas de tomada la muestra.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

- **RT-PCR en tiempo real**

El ensayo de RT-PCR en tiempo real es el método de referencia para el diagnóstico del nuevo virus *Influenza* A (H1N1), mediante el uso del ensayo diseñado y optimizado por el CDC (*Centers for Disease Control and Prevention,* EE.UU.) versión 2009.

Fue diseñado por el CDC y autorizado por la *Food and Drug Administration –FDA-*, para ser utilizado en la detección del genoma viral en muestras respiratorias de pacientes que puedan estar infectados con el nuevo virus. Este ensayo ha sido autorizado hasta el 26 de abril de 2010, mediante una autorización de emergencia (EUA) en la que se deja expresamente aclarado que se autoriza al CDC a usar este ensayo (sin estar aprobado) y a distribuirlo a laboratorios de Salud Pública del mundo y de la red de influenza pero que no se autoriza el uso comercial del mismo. Asimismo, aclara que al momento de dicha autorización, no existe en EE.UU., ensayo alguno que haya sido aprobado y que pueda ser utilizado para el diagnóstico de infecciones con este nuevo virus.

Diagnóstico por RT-PCR en tiempo real, según ensayo y protocolo del CDC versión 2009.

http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptpcr/en/index.html Publicado el 30 de abril de 2009.

Actualmente en la página de la Organización Panamericana de la Salud se encuentra disponible la versión traducida al español del protocolo original.
www.paho.org/CDCrealtimeTRPCRprotoc_spa20090430

Principios del ensayo

Este ensayo puede detectar la presencia de genoma del virus *Influenza* A de origen humano o porcino y diferenciar entre influenza A humana o porcina, y entre las cepas porcinas detectar específicamente al nuevo virus.

Muestras

El ensayo de RT-PCR en tiempo real para el nuevo virus *Influenza* A(H1N1) amplifica el genoma viral en muestras respiratorias o bien a partir de material de cultivo viral.

Reactivos

Este ensayo consiste en un panel de cebadores oligonucleotídicos y sondas fluorescentes doblemente marcadas, con tecnología Taqman®:

1- Un par de cebadores y una sonda fluorescente **InfA** diseñados para la detección universal de virus *Influenza* A que amplifica el gen de la **proteína M** en todos los virus de dicho tipo, de cualquier especie.

2- Un par de cebadores y una sonda fluorescente **swInfA** diseñados para la detección del gen de la **nucleoproteína (NP)** de todos los virus causantes de influenza A porcina.

3- El conjunto **swH1** comprende el par de cebadores y la sonda fluorescente con capacidad para detectar específicamente la **hemaglutinina tipo 1 (H1)** del nuevo virus *Influenza* A(H1N1) de origen porcino.

Este panel incluye además los siguientes controles:

4- Un par de oligonucleótidos y la sonda fluorescente para detectar específicamente el gen de la ARNasa P **(RP)** humana. Este es un control que permite estimar si la cantidad de ARN en la muestra clínica es adecuada.

5- Un control positivo **(CP).** Es un templado que está diseñado para reaccionar con todos los cebadores y sondas incluidos los de la ARNasa P.

Limitaciones del protocolo

1- El protocolo está optimizado para RT-PCR en tiempo real en un paso y para un equipo que tenga una plataforma con formato de 96 pocillos.

2- El procedimiento de extracción del ARN viral es un paso muy importante ya que la calidad del ensayo depende de la cantidad y calidad del ARN templado que se obtenga a partir de la muestra clínica o del cultivo viral. Por lo tanto, se recomienda la utilización de métodos de extracción comerciales, que tienen probada eficacia en la obtención de ARN altamente purificado cuando se siguen estrictamente las instrucciones de uso. Pueden ser utilizados métodos de extracción de ARN automatizados que se encuentran disponibles comercialmente.

Interpretación de los resultados de RT-PCR en tiempo real del CDC versión 2009.

- Negativo: no se detecta genoma viral. Se informa a las 72 h.

Los resultados negativos por RT-PCR en tiempo real deben ser interpretados conjuntamente con la información clínica y epidemiológica, según "*WHO Information for Laboratory Diagnosis of New Influenza A(H1N1) Virus in Humans"*

- Positivo: se detecta genoma viral de *Influenza* A, puede ser que corresponda a *Influenza* A(H1N1) estacional o al nuevo virus *Influenza* A(H1N1) de origen porcino.

Conclusiones

- Un **resultado positivo** indica que el paciente está presuntivamente infectado con el nuevo virus *Influenza* pero no se identifica el estadio de la infección.
- Un **resultado negativo**, no excluye la posibilidad de que el nuevo virus este presente.

Los resultados de la RT-PCR en tiempo real deben ser interpretados de acuerdo con el detalle que figura en el manual del CDC.

La secuenciación del gen de la matriz a partir del producto de RT-PCR utilizando los cebadores recomendados por WHO (ver Anexo1) permitirían diferenciar genes M de origen estacional H1N1, de aquellos de origen porcino. Se recomiendan análisis complementarios para confirmar el origen del virus.

- **RT-PCR convencional**

El diagnóstico molecular mediante RT-PCR convencional, requiere para la correcta identificación de este virus la amplificación de los siguientes genes blanco:

- gen de la proteína de matriz (M) para el virus *Influenza* tipo A,
- gen de la hemaglutinina (HA) específica para el virus *Influenza* A(H1N1) swl (origen porcino).
- gen de la HA específica para *Influenza* A estacional H1/H3 y otros subtipos.

Varios protocolos de RT-PCR convencional y RT-PCR en tiempo real para *Influenz*a A estacional tipo específica se ponen a disposición en un documento de la OMS con fecha 21 de mayo de 2009. Disponible en: **http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/diagnostic_recommendations/en/index.html**

Protocolo de RT-PCR convencional para el gen de la matriz (M) del virus de influenza tipo A.

Este protocolo fue facilitado por la *Virology Division, Centre for Health Protection, Hong Kong SAR, China (WHO H5 Reference Laboratory).*

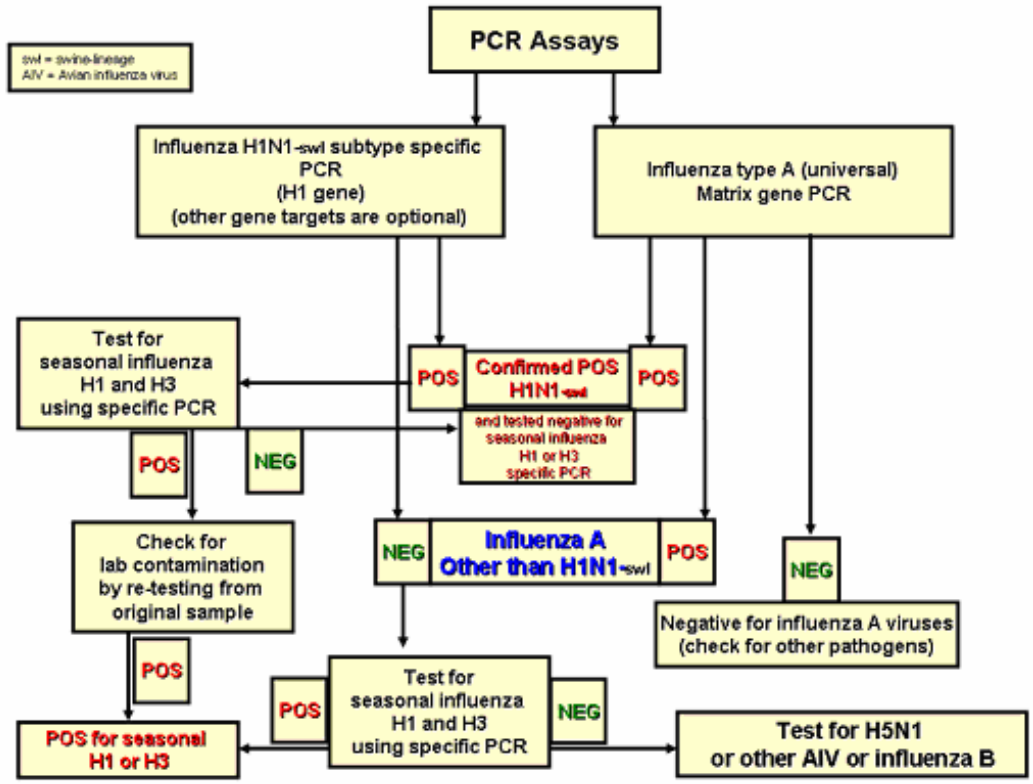
Este ensayo ha demostrado ser efectivo para detectar influenza A si se siguen estrictamente las instrucciones que se detallan.

Interpretación de resultados

De acuerdo con los resultados que se obtengan al amplificar los distintos genes virales, una muestra será considerada positiva para el nuevo virus cuando de positiva para el gen M tipo A universal y para la HA del nuevo virus.

La secuenciación de al menos un gen es esencial para la confirmación del diagnóstico por RT-PCR convencional.

Figura 15. Algoritmo diagnóstico sugerido para RT-PCR del gen M según protocolo del CDC. Los criterios de interpretación de resultados figuran en el inserto del ensayo.



Reacción de RT-PCR en tiempo real para la proteína M. Protocolo de la *Virology Division, Centre for Health Protection, Hong Kong SAR, China,* Laboratorio de Referencia para la OMS en H5.

Protocolo de RT-PCR en tiempo real en un paso con tecnología TaqMan®. Fue cedido por el *National Institute of Infectious Diseases (NIID), Center for Influenza Virus Research*, Tokio, Japón. Centro de Referencia e Investigación de Influenza, colaborador de la OMS.

CULTIVO VIRAL

Aislamiento viral en cultivo de células MDCK

Los laboratorios de la Red de Influenza Global que detecten el nuevo virus y reúnan condiciones de bioseguridad (BSL-3) pueden cultivar el virus.

Para el aislamiento de virus *Influenza* se utilizan células Madin Darby Canine Kidney Cells (MDCK), en las cuáles el virus produce efecto citopático (ECP) como resultado de la replicación viral. Generalmente el ECP viral se manifiesta a partir de los 5 días posteriores a la infección.

Todas las muestras positivas por RT-PCR en tiempo real y un 10 % de las muestras negativas (para estudios de vigilancia virológica/ epidemiológica) son cultivadas en monocapas de células MDCK.

Una de las alícuotas de la muestra se inocula sobre monocapas de células MDCK en tubo, y se incuba con el medio de infección recomendado para el aislamiento de virus Influenza (E-MEM-Medio de cultivo celular sin suero y adicionado de tripsina). El cultivo se incuba en una estufa a 37 °C con 5% de CO_2 y atmósfera húmeda durante 7 días.

Las monocapas celulares inoculadas se observan diariamente al microscopio óptico invertido, para detectar la aparición de ECP viral. Los cultivos con ECP positivo o las células sin ECP al final del período de incubación (7 días) se cosechan (células + sobrenadante) y se extrae el ARN de acuerdo a recomendaciones del protocolo de RT-PCR en tiempo real del CDC (versión 2009).

El ARN extraído de los cultivos es utilizado como templado para la reacción de RT-PCR en tiempo real para el nuevo virus influenza A (CDC versión 2009).

Si el resultado es:

- ***positivo***, el virus detectado debe ser tipificado.
- ***negativo,*** se informa.

Tipificación viral

El aislamiento viral debe ser tipificado mediante la secuenciación de los genes de HA y NA. El análisis filogenético de las secuencias nucleotídicas obtenidas permitirá determinar si el virus aislado, es el nuevo virus de influenza A (H1N1).

La secuencia de cada uno de los cebadores oligonucleotídicos recomendados para la amplificación y secuenciación de los 8 fragmentos de este nuevo virus y el protocolo de la reacción de secuenciación están disponibles en la página de la OMS, con fecha 12 de mayo de 2009 *Sequencing primers and protocol.* Disponible en: http//www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/sequencing_primers/ Los datos de las secuencias nucleotídicas de los nuevos virus se depositan en el GenBank en, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/SwineFlu.html. Las secuencias parciales y del genoma completo (8 segmentos) del nuevo virus *Influeza* A(H1N1) aislado en distintas regiones del mundo durante la actual pandemia, están disponibles con libre acceso.

Los análisis filogenéticos de estas secuencias aportarán información sobre el origen del nuevo virus, así como identificar nuevas cepas, estudiar la evolución del virus en distintas regiones geográficas durante la epidemia, la relación entre brotes, etc.

Algunas consideraciones acerca de otros métodos diagnósticos

La OMS en un documento publicado el 21 de mayo de 2009 "Información para el Diagnóstico de Laboratorio del Nuevo Virus Influenza A (H1N1) en Humanos" **, disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/diagnostic_recommendations/en/index.html, plantea algunas consideraciones sobre el comportamiento de este nuevo virus y la utilidad de otras metodologías diagnósticas que no sean el ensayo de RT-PCR en tiempo real del CDC descripto precedentemente, que se disponen para la detección de los virus de influenza A (estacional o aviar).

Serología

Los ensayos serológicos son métodos diagnósticos indirectos que detectan los anticuerpos (Ac) que pueden estar presentes en el suero de pacientes que han sido infectados con este nuevo virus.

Se considera que dos sueros, uno de la fase aguda y otro de la convaleciente podrían ser utilizados para detectar el aumento en el título de anticuerpos específicos que resulten indicadores de infección reciente.

La detección de Ac específicos en el suero de pacientes infectados se puede realizar mediante ensayos de Inhibición de la HA o micro neutralización frente al nuevo virus *Influenza* A(H1N1). Ambos ensayos deberían ser capaces de detectar la respuesta de Ac luego de la infección por este nuevo virus.

Inhibición de la Hemaglutinación (IHA)

El nuevo virus *Influenza* A(H1N1) puede aglutinar glóbulos rojos de humano, cobayo, pollo y pavo en reacciones de hemaglutinación (HA).

Por lo tanto, la IHA, es una técnica que podrá ser utilizada para la detección de los niveles de Ac específicos en el suero de un paciente.

Los Ac policlonales específicos para el subtipo H1 de influenza estacional del reactivo de influenza de la OMS, no reaccionan en el ensayo de IHA con el nuevo virus.

Si da positivo con el Ac monoclonal que viene en el mismo equipo de diagnóstico hay que confirmar el resultado.

Microneutralización (NV)

Los Ac neutralizantes específicos presentes en el suero de un paciente pueden neutralizar o reducir la infectividad del virus. Esta neutralización de la infectividad se visualiza mediante la reducción del número de placas virales (unidades formadoras de placas, UFP) que se obtienen luego de enfrentar un número fijo de UFP frente a diluciones del suero del paciente en estudio y posterior infección de monocapas celulares. La disminución del número de UFP virales detectadas en presencia del suero de un paciente es indicador de la presencia de Ac específicos en el mismo.

Interpretación de resultados

Un aumento de 4 veces o más en el título de anticuerpos específicos para el nuevo virus influenza A(H1N1), resultaría indicador de infección reciente.

Métodos de detección de antígenos virales

En una publicación reciente de Ginocchio C.C. *et al*., 2009, se informa acerca de una evaluación comparativa de distintos métodos de detección de antígenos para el virus pandémico *Influenza* A H1N1/09. En el marco de la actual pandemia, en la ciudad de Nueva York, EE.UU. se evaluó un gran número de muestras por cuatro métodos diagnósticos: 1) *3M Rapid Detection Flu A+B* (*3MA+B*) (*3M Medical Diagnostics, St Paul, MN*); 2) inmunofluorescencia directa (DFA) utilizando el *D3 Respiratory Virus Reagent* (*Diagnostic Hybrids [DHI], Athens, OH*); 3) *R-Mix Viral Culture* (*DHI*), y 4) el ensayo *Luminex x TAG Respiratory Virus Panel* (*RVP*) (*Luminex Molecular Diagnostics*, *Toronto, Canada*),

El RVP detecta los 10 siguientes virus: adenovirus, metapneumovirus humano, parainfluenza 1-3, rinovirus, virus respiratorio sincicial (RSV) A y B, influenza A e influenza B. Además de la detección de influenza A por el gen M, esta prueba puede subtipificar los genes H1 y H3 de la influenza A estacional. Muestras positivas para el gen de influenza M, pero negativas para los genes H1 y H3 eran consideradas tipo A no subtipificables, y fuertes candidatas a ser portadoras del nuevo virus. Por lo tanto, este ensayo podía discriminar al virus *Influenza* A estacional y permitía la identificación de manera rápida de otros virus respiratorios. Con el avance de la propagación del nuevo virus, estos ensayos fueron reemplazados por la detección específica mediante RT-PCR en tiempo real del CDC, reservada -con el transcurrir del tiempo- para los pacientes hospitalizados.

A continuación se muestran los resultados obtenidos en este estudio, que reflejan los perfiles de sensibilidad (S) y especificidad (E) de estos ensayos frente al nuevo virus (Tabla 6).

Tabla 6. Comparación de cuatro métodos de detección de antígenos para la investigación de *Influenza* A de subtipos combinados, y para el nuevo virus *Influenza* A(H1N1).

Ensayo	Sensibilidad		Especificidad		VPP		VPN	
	Flu A[a] (%)	H1N1[b] (%)	Flu A (%)	H1N1 (%)	Flu A %)	H1N1 (%)	Flu A (%)	H1N1 (%)
Ensayo rápido de Ag	20,7	17,8	93,6	93,6	84,1	77,4	41,8	47,9
DFA	48,6	46,7	94,5	94,5	93,5	91,3	52,8	58,9
R-Mix	82,7	88,9	100	100	100	100	77,9	87,9
PVR	97,8	97,8	100	100	100	100	99,1	97,3

Flu A[a]: comparación de todas las muestras positivas del virus *Influenza* A, incluyendo H1N1 estacional, H3N2 estacional y el nuevo *Influenza* A(H1N1).
H1N1[b]: comparación entre las muestras positivas para el nuevo *Influenza* A(H1N1)
VPP (valor predictivo positivo), **VPN** (valor predictivo negativo), **DFA** (inmunofluorescencia directa utilizando anticuerpo fluorescente), **R-Mix** (cultivo viral rápido), **PVR** (panel de virus respiratorios).

TRATAMIENTO ANTIVIRAL

La nueva cepa de virus *Influenza* A(H1N1) es sensible a los inhibidores de la neuraminidasa, el oseltamivir y el zanamivir, y resistente a los adamantanos (amantadina y rimantadina). A la fecha se han descrito tres casos aislados de resistencia a oseltamivir, el primero en Dinamarca y los otros en Japón, y en Hong Kong. Las cepas de virus *Influenza* A(H1N1) estacional que muestran un alto porcentaje de resistencia a oseltamivir conservan su sensibilidad a zanamivir.

MECANISMO DE ACCIÓN

El oseltamivir y el zanamivir son inhibidores selectivos de las neuraminidasas, glicoproteínas presentes en la envoltura viral de los virus de influenza A y B, con capacidad enzimática (sialidasa que cliva restos de ácido acetil neuramínico en la superficie de las células). Es esencial para la liberación de partículas virales recién formadas que deben brotar desde las células infectadas.

FARMACOCINÉTICA

Luego de la administración oral de oseltamivir, el 80% de la droga se absorbe y es metabolizada por las esterasas hepáticas a oseltamivir-carboxilato, que es el principio activo. No es sustrato de la citocromo P450. Tiene una vida media de 6 a 10 horas y el 80% se excreta por riñón a través de filtración glomerular y secreción tubular. En pacientes cuyo *clearance* (depuración) de creatinina es menor o igual a 30 ml/min se recomienda utilizar una dosis diaria, solamente. No requiere ajustes de dosis en pacientes con insuficiencia hepática leve a moderada. El zanamivir se administra por vía inhalatoria, su biodisponibilidad es del 10-20%. La vida media es de 2,5 a 5 horas y el 90% se excreta sin cambios por el riñón.

EFECTOS ADVERSOS

Los efectos adversos más comunes del oseltamivir son náuseas y vómitos que ocurren en un 10% de los casos; con menor frecuencia se observa dolor abdominal o cefalea. Todos éstos pueden minimizarse si se administra con las comidas. Se han comunicado trastornos de conducta en adolescentes y jóvenes japoneses. Estos efectos no se han observado en otros estudios a gran escala.

El zanamivir puede producir broncoespasmo en pacientes con patología pulmonar previa (ej.: asma y bronquitis crónica), por lo tanto se desaconseja su uso en estos pacientes.

INDICACIONES

El oseltamivir y el zanamivir mostraron beneficio marginal cuando se los utilizó en adultos y niños sanos sin riesgo de complicaciones (Tabla 7), reduciendo en uno o dos días la duración de la fiebre. En algunos estudios se ha demostrado disminución de todas las causas de internación en los meses

siguientes al diagnóstico de gripe y disminución del uso de antibióticos. Estos efectos benéficos se observan cuando el tratamiento se administra en las primeras 48 horas desde el inicio de los síntomas. A pesar de esto, se han visto beneficios en términos de disminución de la mortalidad en pacientes internados por gripe estacional, aun cuando se inicie el tratamiento más tardíamente. En estudios con un pequeño número de pacientes de alto riesgo, el oseltamivir ha mostrado disminución de la mortalidad.

El zanamivir sólo puede ser utilizado en niños mayores de 7 años.

La utilización de quimioprofilaxis con inhibidores de la neuraminidasa ha demostrado ser útil en la influenza estacional para controlar brotes en comunidades cerradas (por ej.: geriátricos, hospitales, etc.). Ambas drogas son efectivas entre el 70 y 80% cuando se las indica para quimioprofilaxis.

En la epidemia que afectó a México y en nuestro medio, han ocurrido varios casos de neumonía bilateral grave en adultos previamente sanos. **La recomendación de expertos locales es indicar tratamiento antiviral precoz en todos los casos sospechosos en personas mayores de 15 años.** Es de suma importancia indicar el **tratamiento antiviral si el paciente pertenece a uno de los grupos de riesgo (Tabla 7) o presenta enfermedad respiratoria aguda grave que requiera internación, independientemente del grupo etario al que pertenezca. Deben recibir tratamiento aquellos niños que presenten enfermedad respiratoria baja aunque no requieran internación**. Las dosis y duración del tratamiento y las profilaxis se muestran en las Tablas 8 y 9.

Cabe mencionar que para los pacientes gravemente comprometidos se utilizará de preferencia oseltamivir y podrán utilizarse además dosis mayores y/o por períodos más prolongados. Estos casos deberán ser seguidos por el médico especialista.

Las embarazadas que padecen influenza estacional durante el segundo y tercer trimestre del embarazo tienen mayor riesgo de sufrir complicaciones graves. Los datos disponibles sobre embarazadas afectadas por el nuevo virus *Influenza* A(H1N1) son aun muy preliminares, habiéndose comunicado casos de neumonías graves. Para embarazadas, el oseltamivir es una droga clase C. Esto significa que no existen estudios controlados sobre su seguridad durante el embarazo. Una comunicación reciente del CDC incluye 30 casos en los cuales la medicación fue bien tolerada. Una pequeña revisión de casos realizada en Japón no mostró asociación con malformaciones congénitas. Por lo tanto, se recomienda utilizar tratamiento o profilaxis según corresponda en las primeras 48 horas de iniciados los síntomas. Los datos de zanamivir en embarazo y lactancia son muy limitados.

Hay escasa información sobre seguridad y eficacia del oseltamivir en niños menores de un año. Pero dado que este grupo etario tiene mayor riesgo de complicaciones, se recomienda utilizar tratamiento antiviral y adecuar las dosis según la Tabla 10. La FDA ha aprobado el uso de esta droga para esta indicación.

Los datos sobre seguridad y eficacia de oseltamivir en inmunocomprometidos también son escasos. En pequeñas series de casos parece seguro y bien tolerado en pacientes con trasplante de células

progenitoras y en niños que reciben radio o quimioterapia, cuando se lo utiliza para tratamiento o quimioprofilaxis

Se le indicará **quimioprofilaxis a todos los contactos estrechos de casos sospechosos o confirmados que pertenezcan a los grupos de riesgo de sufrir complicaciones, y a aquellos miembros del equipo de salud que hubieran tenido un contacto no protegido con dichos casos durante el periodo de contagiosidad que va desde un día antes del inicio de los síntomas hasta 7 días después.** En pacientes con inmunosupresión grave (por ej.: trasplante alogeneico durante el primer año), se considerará el uso de profilaxis durante todo el período que dure la epidemia.

Actualmente la medicación es provista por la mayoría de las instituciones públicas y privadas, y para retirarla se debe concurrir con la planilla epidemiológica correspondiente y la receta firmada por el médico que asistió el caso. (Ver Anexo).

Tabla 7. Grupos con riesgo de padecer complicaciones.

Niños menores de 2 años.

Embarazadas durante el segundo y tercer trimestre.

Adultos mayores de 65 años.

Personas que padecen enfermedades crónicas

- Enfermedad pulmonar crónica (incluye bronquitis crónica, asma, etc.)
- Enfermedades cardiovasculares
- Insuficiencia hepática o renal
- Diabetes
- Inmunosuprimidos (ej.: uso de corticoides, personas viviendo con vih, quimioterapia, radioterapia).
- Obesidad mórbida.

Tabla 8. Tratamiento y profilaxis con oseltamivir según grupo etario.

Grupo etario		**Tratamiento**	**Profilaxis**
Adultos		75 mg, cada 12 h x 5 días	75 mg, 1 vez por día x 10 días
Niños	< 15 kg	60 mg / día dividido en 2 tomas	20 mg, 1 vez por día x 10 días
	15-23 kg	90 mg / día dividido en 2 tomas	45 mg, 1 vez por día x 10 días
	24-40 kg	120 mg / día dividido en 2 tomas	60 mg, 1 vez por día x 10 días
	> 40 kg	150 mg / día dividido en 2 tomas	75 mg, 1 vez por día x 10 días

Tabla 9. Tratamiento y profilaxis con zanamivir para adultos y niños mayores de 7 años.

Tratamiento	Profilaxis
2 inhalaciones de 5 mg (10 mg) cada 12 h x 5 días	2 inhalaciones de 5 mg (10 mg) cada 24 h x 10 días

Tabla 10. Tratamiento y profilaxis con oseltamivir para niños menores de 2 años.

Edad	Tratamiento	Profilaxis
< 3 meses	12 mg, 2 veces x día	12 mg, 1 vez x día
3 a 6 meses	20 mg, 2 veces x día	20 mg, 1 vez x día
6 a 11 meses	25 mg, 2 veces x día	25 mg, 1 vez x día

MEDIDAS GENERALES DE PREVENCIÓN

Para prevenir la transmisión del nuevo virus pandémico *Influenza* A H1N1/09 se deben cumplir las siguientes recomendaciones:

- Cubrir la boca y la nariz al toser o estornudar con un pañuelo descartable y desecharlo luego de su uso, o cubrirse con la cara interna del antebrazo. (Ver Afiche en Anexo).
- Lavar frecuentemente las manos con agua y jabón, especialmente después de toser o estornudar. Se recomienda el uso de antisépticos con base alcohólica (por ej.: alcohol-gel) cuando no se disponga de agua y jabón.
- Evitar llevar las manos a los ojos, nariz o boca.
- Evitar el contacto cercano con personas enfermas.
- Limpiar y ventilar frecuentemente los ambientes.
- Evitar el uso compartido de vajilla, cubiertos y mate.
- Utilizar barbijo según indicación del médico.

PROFILAXIS ACTIVA

La vacunación antigripal es el método más efectivo para la prevención de la influenza estacional.

La vacuna antineumocócica también es sumamente útil al prevenir un porcentaje importante de sobreinfecciones bacterianas.

El desarrollo de una vacuna contra la nueva cepa, desde la preparación de una cepa, su producción en masa y distribución requiere como mínimo de 2 a 4 meses.

Ante la aparición de una cepa con potencial pandémico, en los períodos iniciales las medidas generales sólo podrán hacer más lenta la diseminación del virus. En estos períodos iniciales, el uso racional de los antivirales y antibióticos podrá minimizar las muertes causadas por la nueva influenza. Asimismo, se deberá optimizar la vacunación con las vacunas disponibles, las antigripales estacionales y la vacuna antineumocócica.

VACUNAS PARA LA NUEVA INFLUENZA A (H1N1)

La selección, desarrollo y disponibilidad de virus vacunales de este nuevo virus es un componente esencial en la estrategia global de preparación y respuesta a la pandemia. La OMS a través de la Red de Vigilancia Global de Influenza, continuará con el monitoreo de la evolución de este nuevo virus, para poder mantener actualizadas las recomendaciones sobre los virus vacunales que deberán ser utilizados.

La emergencia y la diseminación del nuevo virus *Influenza* A(H1N1) se ha convertido en un problema mundial.

Anualmente para influenza estacional se actualizan los virus vacunales en setiembre de cada año para el hemisferio sur, y en febrero del año siguiente para el hemisferio norte.

Las relaciones antigénicas son evaluadas por IHA y por crecimiento del virus en cultivo celular. El análisis filogenético de los genes de las HA y NA ayuda a definir la relación genética de las variantes antigénicas con sus predecesores, y a elucidar la base molecular del *drift* antigénico. La incidencia de nuevas variantes antigénicas se asocia con brotes en distintos países. Este es un criterio importante en la selección de los virus epidemiológicamente importantes cuando se está seleccionando un virus vacunal.

CARACTERÍSTICAS ANTIGÉNICAS DEL VIRUS PANDEMICO *INFLUENZA* A H1N1/09

La OMS en un documento del 26 de mayo de 2009, describe las características antigénicas del nuevo virus en función del diseño de vacunas específicas. Mediante ensayos de IHA se demostró que los aislamientos del nuevo virus provenientes de Norte América, Europa y Oceanía son antigénicamente homogéneos frente a sueros de hurones infectados, y antigénicamente diferentes de las cepas de *Influenza* A (H1N1) estacional que circulan actualmente.

Se ha demostrado que el virus emergente es antigénicamente similar a los virus *Influenza* A (H1N1) de cerdo triple reasortante, representados por A/Illinois/09/2007, que ha circulado en los cerdos de EE.UU. durante los últimos 10 años y que ocasionalmente infectaron a humanos durante ese período.

El análisis filogenético de secuencias de HA y NA del nuevo virus *Influenza* A(H1N1) muestra que son relativamente homogéneos. En el gen de la NA de todos los aislamientos del nuevo virus que se han secuenciado hasta fines de mayo de 2009, no se han detectado las mutaciones asociadas a resistencia a oseltamivir y zanamivir. Además, mediante ensayos fenotípicos se ha comprobado que este virus es sensible a ambos antivirales.

Por el contrario, en todas las secuencias que se disponen de la proteína viral M2 se observa una asparagina en la posición 31 de M2. Esta mutación se asocia con resistencia a amantadina y rimantadina.

VIRUS VACUNALES DISPONIBLES

La OMS ha comunicado que se encuentran disponibles cuatro virus vacunales prototipos que podrán ser suministrados a los laboratorios productores de vacunas de influenza que reúnen los requisitos de contención para la producción de vacunas del nuevo virus. En general se requiere nivel de bioseguridad clase 2 (BSL-2) con prácticas BSL-3. Las cepas vacunales pueden solicitarse al *WHO Global Influenza Programe.* E-mail: GISN@who.int.

Dos de estos virus vacunales han sido obtenidos mediante genética reversa (IDCDC-RG15 y NIBRG-122); otros dos por la metodología de reasociación tradicional (IVR-153 y X-179).

Todas estas cepas han sido evaluadas con respecto a su seguridad y atenuación en el modelo de hurones. Todas son atenuadas en hurones con respecto a la cepa *wild type* (wt), o cepa salvaje, de la que derivan.

- IDCDC-RG15: derivada del virus wt A/Texas/15/2009 (H1N1)v
- NIBRG-122: derivada del virus wt A/California/7/2009 (H1N1)
- X-179: derivada del virus wt A/California/4/2009 (H1N1)
- IVR-153: derivada del virus wt A/California/2009 (H1N1).

Los lotes que se obtengan en escala piloto deberán ser utilizados para la determinación de la dosis necesaria para estimular una respuesta de anticuerpos adecuada, de acuerdo al grupo etario. Se deberán realizar ensayos clínicos a pequeña escala a fines de evaluar dosis y seguridad.

La OMS ha realizado un relevamiento de la capacidad de producción mundial de la vacuna del nuevo virus, y cual es la situación actual respecto a la producción de la vacuna de la influenza estacional. Ante la respuesta de los laboratorios productores de vacuna se prevé que para el 31 de julio de 2009 la producción de la vacuna trivalente estacional **H1N1/H3N2/B** estará en un 91,2 % del total de las dosis que se habían programado, lo cual equivale a 449,6 millones de dosis.

En tanto, 25 laboratorios han respondido que pueden producir la nueva vacuna. En función de las capacidades la OMS ha estratificado a todos los productores de vacuna en dos grupos: A y B.

Los productores del grupo A comprenden a 7 laboratorios que estarían en condiciones de producir 2 millones de dosis por semana; el grupo B comprende a 18 laboratorios productores con menor capacidad.

Tabla 11. Formulaciones proyectadas de vacunas del nuevo virus *Influenza* A(H1N1).

	Total	**Virión completo**	**Virión *split****	**Subunidad**	**Atenuada a virus vivo**	**Proteína recombinante**
Vacunas	**31**	**9**	**14**	**4**	**3**	**1**
Con adyuvante**	**12**	**6**	**3**	**3**	**--**	**-**

* , o subvirión
**, adyuvante: en la mayoría de los casos es hidróxido de alumnio o una emulsión oleosa en agua.

ANEXO. FICHA CLINICO–EPIDEMIOLOGICA PARA LA NOTIFICACION E INVESTIGACION DE CASOS

GOBIERNO DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES
MINISTERIO DE SALUD
FICHA EPIDEMIOLÓGICA PARA INVESTIGACIÓN DE CASOS. NUEVO VIRUS INFLUENZA A H1 N1.

Definición de caso sospechoso s/ situación epidemiológica 06/05/09

Toda persona con Enfermedad Respiratoria Aguda Febril (Fiebre superior a 38ºC), con un espectro de enfermedad desde enfermedad tipo influenza hasta neumonía, con nexo epidemiológico con país afectado con transmisión humano a humano

Datos De Identificación Del Paciente

Apellido y Nombres:.. ……..... Edad:..... Sexo……..

Dirección: Calle y Nº..... ...Ciudad:.....

Provincia:.....Tel:.....Ocupación.....

Domicilio Laboral ..... Tel:.....

Datos de la Institución

Médico:.....Hospital:.....Tel:.....….....
Correo electrónico:…….....

Datos Epidemiológicos

Recibió vacuna antigripal estacional previamente: No..... Si…..Fecha...../...../.....

Antecedentes de Viaje a Zonas afectadas 7 días antes de inicio de los Síntomas Si___No__

País o lugar de viaje:..... Desde...../...../..... Regresó ...../...../.....

Línea Aérea en la que ingresó al país.....

Nº de vuelo.....Fila y Nº de siento.....

Tuvo contacto con algún paciente sospechoso de influenza? Si..... No.....No sabe.....……

Nombre y Apellido del contacto con síntomas……

Dirección y Nº telefónico del mismo.....

Contactos

Número de contactos		Sin Síntomas		Con síntomas	

Nombre y Apellido	Tipo de relación*	Domicilio	Teléfono	Qimioprofilaxis

* Convivientes, no convivientes, pasajeros.

A los convivientes sintomáticos de grupo de riesgo llenar una nueva ficha, y realizar toma de muestra.

DATOS CLÍNICOS (tildar lo que corresponda)

Fecha de inicio de síntomas ...../...../..... **Ambulatorio Si.....No.....**			
Comienzo de síntomas ...../...../..... **Internado Si..... No.....**			
Fiebre de 38 o mayor: Si.....No.....	**Cefalea Si.....No.....**	**Mialgia Si.....No.....**	**Postración Si.....No.....**
Coriza Si..... No..... Catarro de Vias Aereas superiores Si.....No....	**Dolor de garganta Si.....No.....**	**Tos moderada Si.....No.....**	**Tos intensa Si.....No.....**
Nauseas Si..... No.....	**Vómitos Si..... No.....**	**Diarrea Si..... No.....**	
Rayos X de Tórax:	**Si** / **No**	**Describir imagen:**	

Tratamiento antiviral: SI □ NO □ Cual:.....Dias de TTo: ……

DATOS DE LABORATORIO

	Fecha toma de muestra	**Fecha de Procesamiento**	**Resultados**	**Observaciones**
Hisopado nasal y faríngeo				
ANF				
Serología 1ra muestra				
Serología 2da muestra				

EVOLUCIÓN Marcar con una X

Complicaciones: **NO..... SI..... En caso afirmativo tildar opciones**			
Neumonía viral □	Neumonía bact. □	Pleuresía □	Bronquitis □
Bronquiolítis □	Otitis □	Faringitis □	
Miocarditis □	Pericarditis □	Endocarditis □	
Glomerulonefritis □	Nefritis aguda □		
Encefalitis □	Meningitis □	S. Guillain Barre □	S. Reye □

Fecha De Alta _____/_____/_____

Condición al Alta: Derivado NO ☐ **SI** **Hospital :**

Fallecido NO ☐ **Si** ☐ **Fecha fallecimiento** ____/____/_____

Clasificación Final del caso:……

Comentarios:…….

Firma y matricula del notificador:……

GOBIERNO DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES
MINISTERIO DE SALUD
FICHA PARA ENTREGA DE MEDICACIÓN. INFLUENZA A H1N1

Datos del Paciente

Apellido y Nombres:.. ……..……. Edad:..... Sexo…….

Dirección: Calle y Nº..... Ciudad:.....

Provincia:..... Tel:.....

INDICACIONES

(Marcar la indicación correspondiente y aclarar los factores de riesgo)

Pacientes internados con IRAG de cualquier edad	
Casos ambulatorios de IRA con Factores de riesgo (FR)* para influenza A	
Personas de 15-64 años que cumplan con la definición de caso sospechoso	
Personas menores de 15 años CON clínica ó RX compatible con neumonía o neumonitis que NO requiera hospitalización y NO pertenezca a un grupo de riesgo	
Personas que sean contactos estrechos de casos sospechosos y tengan Factores de Riesgo **	
Personal de Salud que haya estado en contacto estrecho con caso sospechoso o confirmado y sin medidas de bioseguridad	
* F.R:	
** F.R:	

Datos Epidemiológicos

Ambulatorio: **Fecha de inicio de síntomas:.../..../....**

Internado: Fecha de internacion: ...../.../.....
Hospital:..... Sala .....
Diagnóstico :.....

Comorbilidades:.....

Dosis indicada: .....

Médico:.....

Firma y matrícula del profesional: ……

AFICHE DE DIVULGACION PARA PREVENIR EL CONTAGIO DE LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS

NUEVA INFLUENZA A (H1N1)

CUBRA SU TOS

EVITE EL CONTAGIO DEL NUEVO VIRUS INFLUENZA A (H1N1)
Y OTRAS INFECCIONES RESPIRATORIAS

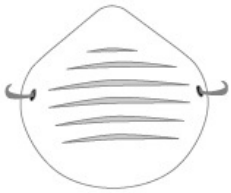
* **¡Pare la propagación de gérmenes que enferman a usted y a otras personas!**

Cubra su boca y nariz con un pañuelo descartable cuando tosa o estornude

Deseche el pañuelo sucio en un cesto de basura...

o tosa / estornude en la manga de su camisa, no en sus manos

Quizás le pidan ponerse un barbijo quirúrgico para proteger a otras personas



Lávese las manos con jabón y agua tibia por 20 segundos...

o límpielas con alcohol gel

UBA
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Comité de Emergencias Biológicas-UBA

BIBLIOGRAFÍA

RESEÑA HISTORICA. OMS-FASES DE LA PANDEMIA

- Ayora-Talavera G. Influenza: Historia de una enfermedad. Rev Biomed 1999; 10: 57-61. Disponible en: http://www.uady.mx/~biomedic/rb991017.html.

- Guan Y, Chen H, Li K, *et al.* A model to control the epidemic of H5N1 influenza at the source. BMC Infect Dis 2007; 13:132.

- National Institutes of Health. National Institutes of Allergy and Infectious Diseases. Timeline of human flu pandemics.
Disponible en: http://www.cdc.gov/h1n1flu/. Consultado el 15/05/2009.

- Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, *et al.* Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol Rev 1992; 56: 152-79.

- WHO Guidelines for Humanitarian Agencies. Pandemic influenza: preparedness and mitigation in refugee and displaced populations. Second edition, 2008.
WHO/HSE/EPR/DSE/2008.3. Disponible en:
http://www.who.int/csr/disease/swineflu/assess/disease_swineflu_assess_20090511/es/index.html. Consultado el 15/05/2009.

PATOGENIA. ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS DE LA PANDEMIA

- Barker J, Stevens D, Bloomfield SF. Spread and prevention of some common viral infections in community facilities and domestic homes. J App Microbiol 2001; 91: 7-21.

- Carballal G, Oubiña JR. Virología Médica. Capítulo 5: "Patogenia de las infecciones virales". Mathet V, Oubiña JR; Capítulo 14: "Orthomyxovirus" Savy V, Baumeister EG. 4ta. Edición. Editorial Corpus. En prensa, 2009.

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: novel *Influenza* A(H1N1) virus infection – Mexico, March-may, 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58: 585-9.

- Chowell G, Bertozzi SM, Colchero MA *et al*. Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 influenza. N Eng J Med 2009 Jun 29 [Epub ahead of print].

- Depoortere E, Lenglet A, Kreidl P, *et al*. Influenza A (H1N1) in the southern hemisphere - lessons to learn for Europe? Eurosurveillance 14, (issue 24), 18 June 2009.

- Fraser C, Donnelly CA, Cauchemez S, *et al*. Pandemic potential of a strain of *Influenza* A(H1N1) : Early Findings. Science 2009 May 14. [Epub ahead of print].

- Gallaher WR. Towards a sane and rational approach to management of Influenza H1N1 2009. Virol J 2009 May 7; 6: 51. [Epub ahead of print].

- Maines TR, Jayaraman A, Belser JA, *et al.* Transmission and pathogenesis of swine-origin 2009 A (H1N1) Influenza viruses in ferrets and mice. 2009 Jul 2. [Epub ahead of print].

- Mammalian Influenza Group. EU project consortium –VLA Weybridge. Pig infection studies with *Influenz*a A(H1N1) associated with global epidemic in humans. Preliminary Summary - Update 1, May 29, 2009.

- Ministerio de Economía y Producción. INTI-Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Proyecto Pruebas de Desempeño de Productos. Informe de Análisis de Aguas Lavandinas. Disponible en: http://www.inti.gov.ar/productos/pdf/informe_lavandinas.pdf y http://www.inti.gob.ar/sabercomo/sc69/inti2.php

- Miotto O, Heiny A, Tan TW, *et al*. Identification of human-to-human transmissibility factors in PB2 proteins of *Influenz*a A by large-scale mutual information analysis. BMC Bioinformatics 2008; 9: S18.

- Mossad SB. The resurgence of swine-origin influenza A (H1N1). Cleve Clin J Med 2009; 76: 337-43.

- Munster VJ†, de Wit E, van den Brand JMA. Pathogenesis and transmission of swine-origin 2009 A (H1N1) *Influenza* virus in ferrets. 2009 Jul 2. [Epub ahead of print].

- Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. Emergence of a novel swine-origin *Influenza* A(H1N1) virus in humans. N Engl J Med 2009 May 7. [Epub ahead of print].

- Pérez Padilla R, De la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S *et al*. Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in México. N Engl J Med 2009 Jun 29. [Epub ahead of print].

- Pieiris JS, Poon LL, Guan Y. Emergence of a novel swine-origin *Influenza* A virus (S-OIV) H1N1 virus in humans. J Clin Virol 2009; 45: 169-73.

- Rambaut A, Pybus OG, Nelso MI, *et al*. The genomic and epidemiological dynamics of human *Influenza* A virus. Nature 2008; 453: 615-9.

- Salomon R, Webster RG. The *Influenz*a virus enigma. Cell 2009; 136: 402-10.

SENASA. No se han registrado nuevos casos del virus A (H1N1) humano en porcinos. (1 de julio de 2009). Disponible en: http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=1428&ino=0&io=10053

- Sypsa V, Hatzakis A. School closure is currently the main strategy to mitigate *Influenza* A(H1N1)v: a modeling study. Eurosurveillance 14 (issue 24), June 18, 2009.

- Smith GJ, Vijaykrishna D, Bahl J, *et al.* Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. Nature 2009 Jun 11. [Epub ahead of print].

- Tanaka T, Nakajima K, Murashima A, *et al.* Safety of neuraminidase inhibitors against novel influenza A (H1N1) in pregnant and breastfeeding women. CMAJ 2009 Jun 16. [Epub ahead of print]

- Van Hoeven N, Pappas C, Belser JA, *et al*. Human HA and polymerase subunit PB2 proteins confer transmission of an avian influenza virus through the air. Proc Natl Acad Sci U S A 2009; 106: 3366-71.

- Zell R, Krumbholz A, Eitner A, *et al*. Prevalence of PB1-F2 of *Influenza* virus. J Gen Virol 2007; 88: 536-46.

- Zimmer SM, Burke DS. Historical perspective-Emergence of *Influenza* A(H1N1) viruses. N Engl J Med. 2009 Jun 29. [Epub ahead of print]

LA NUEVA INFLUENZA A (H1N1) Y LOS PORCINOS

- Sreta D, Kedkovid R, Tuamsang S, *et al*. Pathogenesis of swine *Influenza* virus (Thai isolates) in weanling pigs: an experimental trial**.** Virol J 2009; 6: 34.

- Vincent A, Swenson S, Lager K, *et al*. Characterization of an *Influenza* A virus isolated from pigs during an outbreak of respiratory disease in swine and people during a county fair in the United States. Vet Microbiol 2009; 137: 51-9.

- Zimmer S, Burke D. 2009. Historical perspective: emergence of *Influenza* A(H1N1) viruses. N Engl J Med 2009; 361: 279-85.

CUADRO CLINICO

- Dawood F S, Jain S, Finelli L, *et al.* Emergence of a novel swine-origin *Influenza* A (H1 N1) in humans. N Engl J Med 2009; 360: 2605-15.

- Perez Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de León S, *et al.* Pneumonia and respiratory failure from swine origin influenza A (H1 N1) in Mexico. N Engl J Med 2009; 361: 1-10.

- Treanor J J. *Influenza* virus. En: Mandell G L, Bennett J E, Dolin R, (Eds.) Principles and Practice of Infectious Diseases. Sixth Edition, Elsevier, 2007, p. 2061-85.

SOBREINFECCION BACTERIANA

- Bath N, Wrigth J G, Broder K R, *et al*. Influenza associated deaths among children in the United States, 2003-2004. N Engl J Med 2005; 353: 2559-67.

- Brundage J F, Shanks G D. Deaths from bacterial pneumonia during 1918-19 influenza pandemic. Emerg Infect Dis 2008; 14: 1193-9.

- Grabouska K, Hogberg L, Penttinen P, *et al*. Occurrence of invasive pneumococcal disease and number of excess cases due to influenza. BMC Infect Dis 2006; 6: 1-9.

- Gupta R K, George R, Nguyen-Van-Tam J S. Bacterial pneumonia and pandemic planning. Emerg Infect Dis 2008; 14: 1187-92.

- Morens D M, Taubenberger J K, Fauci A S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. J Infect Dis 2008, 198: 962-70.

- Viboud, C, Grais R F, Lafont B A P, *et al.* Multinational impact of the 1968 Hong Kong influenza pandemic: evidence for a smoldering pandemic. J Infect Dis 2005; 192: 233-6.

REQUERIMIENTOS INSTITUCIONALES

- Dirección Gral. Redes y Programas de Salud. Dpto. Epidemiología GCBA: MEMORÁNDUN N° 1646 - DGRyPS – 09.

- Dirección Gral. Redes y Programas de Salud. Dpto. Epidemiología GCBA: MEMORÁNDUM N°: 1828 - DGRyPS – 09; 5º ALERTA: NUEVO VIRUS INFLUENZA A / H1 N1. Actualización 07/07/09.

- Ministerio de Salud de la Nación. Plan de contingencia 2009.

- Ministerio de Salud de la Nación. Disponible en: http:// www.msal.gov.ar. Consultado el 9 de julio de 2009.

- Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires. Gripe porcina Recomendaciones Sanitarias para el Equipo de Salud Provincia de Buenos Aires. Abril - año 2009.

- OMS. Enfermedades respiratorias agudas con tendencia epidémica y pandémica. Prevención y control de la infección en establecimientos de salud. Guía abreviada 2008.

- Sociedad Argentina de Infectología (SADI), Sociedad Argentina de Pediatría (SAP) (Comité Nacional de Infectología). Documento sobre infección por virus *Influenza* A (H1N1). Junio de 2009.

DIAGNOSTICO VIROLOGICO

- Administración Nacional de Laboratorios de Salud (ANLIS). Información sobre infección por virus *Influenza* A(H1N1). Disponible en: http://www.anlis.gov.ar/porcina

- Ginocchio CC, Zhang, F, Manji, *et al*. Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak . J Clin Virol 2009; 45: 191-5.

- Ministerio de Salud de la Nación. Disponible en: http://www.msal.gov.ar

- World Health Organization. CDC protocol of real time RT-PCR for swine influenza A (H1N1). Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptpcr/en/index.html Consultado el 5 de mayo de 2009.

- World Health Organization (WHO). Information for Laboratory Diagnosis of New *Influenza* A(H1N1) Virus in Humans. Publication date: May 21, 2009. (Updated version, document originally published on 27 April 2009). Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/diagnostic_recommendations/en/index.html

TRATAMIENTO ANTIVIRAL

- Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Novel *Influenza* A(H1N1) virus infection in three pregnant women. Unite States, April-May 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58: 497-500.

- Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Update drug susceptibility of swine origin influenza A (H1N1) viruses. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58: 433-5.

- Harper S A, Fukuda K, Uyeki T M, *et al*. Prevention and control of influenza. Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practice (ACIP) Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2005; 54: 1-40.

- Jones M, Del Mar C. Safety of neuraminidase inhibitors for influenza. Expert Opin Drug Saf 2009; 5: 603-8.

- Sherif B. The resurgence of swine origin influenza A (H1N1). Cleve Clin J Med 2009; 76: 337-43.

- Tanaka T, Nakajima K, Murashima A, *et al*. Safety of neuraminidase inhibitors against novel influenza A (H1N1) in pregnant and breastfeeding women. CMAJ 2009; 181: 55-8.

- Shirmer P, Holodniy M. Oseltamivir for the treatment and prophylaxis of influenza infection. Expert Opin Drug Saf 2009; 8: 357-71.

- Vu D, Peck A J, Nichols W G, *et al*. Safety and tolerability of oseltamivir prophylaxis in haematopoietic stem cell transplant recipients: a retrospective case control. Clin Infect Dis 2007; 45: 187-93.

- Winquist A G, Fukuda K, Bridges C B, *et al.* Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Neuraminidase inhibitors for treatment of influenza A and B infections. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1999; 48: 1-9.

VACUNAS

- Collin N, de Radiquès X, Kieny MP, *et al*. New influenza A (H1N1) vaccine: how ready are we for large-scale production? Vaccine 2009, doi:10.1016/j.vaccine.2009.06.034.