



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**"MANUAL DE VIROLOGIA PARA ESTUDIANTES
DE QUIMICA"**



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

TRABAJO MONOGRAFICO MANCOMUNADO

Que para obtener el título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

presentan:

**ELSA DOLORES MUNGUIA QUIROZ
EMMA ELENA ZAMORA DORBECKER**

México, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

CAPITULO I. INTRODUCCION Y GENERALIDADES	1
La Virología como ciencia biológica	1
Orígenes y antecedentes históricos de la Virología	1
Definición de virus y su estructura	4
¿ Son los virus organismos vivos ?	8
Propiedades de los virus	10
Clasificación	11
Nomenclatura y Taxonomía de los virus	12
Sensibilidad a agentes físicos y químicos	17
CAPITULO II. INTERACCION VIRUS-HUESPED	22
INTERACCION VIRUS-CELULA	22
Fases de la infección	23
Penetración	24
Pérdida de la envoltura	25
Fase de eclipse	26
Replicación	26
Virus con ADN	26
Virus con ARN	27
Maduración y liberación	33
Genética viral	35
INTERACCION VIRUS-ORGANISMO COMPLETO	40
Patogénesis de las infecciones virales	40
Puerta de entrada, diseminación, excreción y transmisión de los virus	41
Patogenia ligada al huésped	44
Reacciones inflamatorias	44
Inmunopatología	45
Mecanismos de resistencia	45
Mecanismos inespecíficos	45
Interferón	46
Mecanismos específicos	49
Inmunidad humoral	50
Inmunidad celular	52
Inmunopatología humoral y celular	52

INTERACCION VIRUS-COMUNIDAD	54
Epidemiología	54
Indice de morbilidad	55
Indice de persistencia	55
Indice de mortalidad	56
Aspectos ecológicos	56
CAPITULO III. METODOS PARA EL ANALISIS Y AISLAMIENTO DE LOS VIRUS.	61
Centrifugación diferencial	61
Sedimentación zonal	61
Centrifugación en gradiente de densidad equilibrada	62
Electroforesis	62
Cromatografía	62
Difracción de rayos X	63
Microscopio electrónico	63
AISLAMIENTO DE VIRUS	66
Sustratos para la replicación viral	66
Cultivo de virus en huevos embrionados	66
Vías de inoculación	67
Cultivo de virus en animales	71
Vías de inoculación	72
Cultivos celulares	73
Características de los cultivos celulares	75
Factores de crecimiento e inhibición	75
Técnicas de cultivos celulares	76
Medios y soluciones empleados en el cultivo de células	77
Efecto de los virus sobre los cultivos celulares	79
CAPITULO IV. DIAGNOSTICO DE LAS INFECCIONES VIRALES	81
Selección y almacenamiento de muestras	81
METODOS SEROLOGICOS DIRECTOS	82
Serología	83
Neutralización	84
Fijación del complemento	85
Hemaglutinación e inhibición de la hemaglutinación	86
Hemadsorción e inhibición de la hemadsorción	88
Precipitación y aglutinación	89
Inmunofluorescencia	90

Radioinmunoensayo	91
ELISA (Ensayo Inmunosorbente Enzima-conjugada)	92
ELFA (Enzyme linked Fluorescence Assay)	93
MÉTODOS PARA CUANTIFICAR LA INFECTIVIDAD VIRAL	93
Dosis respuesta enumerativa	94
Método de la placa	94
Dosis respuesta cuantitativa	95
Método de diluciones extremas	95
Método de Reed-Muench	95
Método de Kaerber	97
Dosis respuesta "DE GRADACION".....	97
CAPITULO V. TRATAMIENTO Y PREVENCION	100
Quimioterapia	100
Empleo y preparación de vacunas y sueros hiperinmunes	103
Empleo de vacunas	104
Administración de vacunas	105
Elaboración de vacunas	106
Conservación y almacenamiento.....	107
Riesgos de la vacunación	108
Empleo de sueros inmunes	108
CAPITULO VI. VIRUS DE ARN	113
Picornaviridae	113
Ortomixoviridae	126
Paramixoviridae	135
Togaviridae	152
Bunyaviridae	171
Reoviridae	175
Rhabdoviridae	184
Retroviridae	192
CAPITULO VII. VIRUS DE ADN	199
Parvoviridae	199
Papovaviridae	205
Adenoviridae	217
Herpetoviridae	226
Poxviridae	248
CAPITULO VIII. VIRUS DE LA HEPATITIS	259

O B J E T I V O

Los avances científicos a partir de las tres últimas décadas en el campo de la Virología y especialmente de la Virología animal han sido tan numerosos que sería imposible el poder abarcarlos en un solo texto.

Cuando el alumno del área biológica inicia el estudio de los virus, se encuentra ante varios problemas siendo - uno de los más importantes, el no contar con material que le proporcione información a un nivel adecuado, ya que la gran mayoría de los libros y revistas resultan demasiado especializados o bien le ofrecen datos que no resuelven to talmente sus inquietudes.

Por tal razón este trabajo tiene como objetivo primor dial ofrecer al estudiante un manual en el cual encuentre respuesta a muchas de las interrogantes que pudieran presen tarsele en el campo de la Virología.

En este manual presentamos una revisión lo más comple ta y actualizada posible de las principales familias vira les que ocupan un papel importante dentro de la Virología animal, tratando así de despertar el interés en el estudian te de Virología, para que profundice en aquellos temas que motiven su curiosidad y descubra así un nuevo y maravillo- so oampo dentro de la Microbiología.

CAPITULO I. INTRODUCCION Y GENERALIDADES

LA VIROLOGIA COMO CIENCIA BIOLOGICA

La Virología se ha convertido en una ciencia biológica básica. Así como la Bacteriología surgió a principios de siglo, la Virología, a partir de los años 50, se convirtió en una ciencia biológica, con sus propias perspectivas y desarrollo interno. Desde sus comienzos como una rama de la Patología - animal, humana y vegetal - la Virología se ha desarrollado hasta un punto donde la tecnología lo ha permitido, tanto por sus logros internos como por las demandas de sus campos de aplicación.

Un mayor adelanto lo constituyó el avance en el conocimiento de los virus bacterianos (bacteriófagos) y la integración de los estudios de éstos con la Genética Bacteriana. Al mismo tiempo surgió una nueva disciplina: la Biología Molecular, que se desarrolló fundamentalmente a partir de la observación de que los virus bacterianos tenían propiedades que los hacían especialmente adecuados como un sistema modelo para estudios a nivel de genética molecular. La Virología por tanto, se ha convertido en una parte integral de la Biología Molecular, ya que las investigaciones hechas con los virus han revelado una serie de principios fundamentales que han influido en forma importante en la investigación biológica.

ORIGENES Y ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA VIROLOGIA

Muchas enfermedades que actualmente se consideran de origen viral han sido descritas desde tiempos inmemoriales; así, en el siglo 10 A.C., aparece en China una fiebre con un cuadro muy similar al de la viruela y la fiebre a marilla se reporta en los navegantes de los mares de Africa tropical de hace varios siglos. En aquellas épocas se desconocían tanto la naturaleza como la etiología de la enfermedad.

En 1798, Jenner introduce la práctica de la vacunación contra la viruela sin saber que estaba frente a una enfermedad viral, y Pasteur en 1884 obtiene la vacuna contra la rabia antes de que pudiera aislarse el primer virus - animal. Desde 1880, Koch, Pasteur y Ehrlich observaron que existían otras enfermedades infecciosas que no eran causadas ni por bacterias, ni por toxinas o venenos. No se detectaban bacterias en los cultivos realizados con muestras de las lesiones de las enfermedades, las cuales sin embargo, podían transmitirse de un animal a otro, considerándose por lo tanto enfermedades infecciosas. Además este material conservaba su poder infectante después de su

paso a través de filtros para bacterias, por lo que fueron llamados "virus filtrables" y más tarde simplemente "virus".

En 1892, Iwanowski aisló el virus del mosaico del tabaco, pero fueron las demostraciones de Beijerinck el punto de partida de los estudios de lo que ahora se conoce como Virología.

En el siguiente cuadro se resumen los hechos históricos que han marcado avances en el desarrollo de la Virología:

Fecha aproximada	Principales autores	Descubrimiento
1892	Iwanowski	Señaló que la enfermedad del mosaico, en el tabaco, se debía a un "agente - filtrable".
1898	Löeffler y Frosch	Descubrieron el virus de la glosopeda que fué el primer virus animal que se describió.
1898	Beijerinck	"Redescubrió" el virus del mosaico del tabaco, al que llamó <i>contagium vivum fluidum</i> .
1902	Reed	Descubrió la causa de la fiebre amarilla y con ella el primer virus patógeno del hombre.
1908	Ellerman y Bang	Demostraron que la leucemia de pollos podía ser transmitida utilizando extractos sin células.
1911	Rous	Describió la transmisión en el pollo del virus del sarcoma que lleva su nombre.
1915 1917	Twort D'Herelle	Descubrió los bacteriófagos. "Redescubrió" los bacteriófagos y creó el ensayo en placa para la cuantificación de los virus infectantes.
1931	Woodruff y Goodpasture	Crearon el cultivo de los virus en embriones de pollo.
1933	Shope	Describió el virus del papiloma del conejo.
1935	Stanley	Logró cristalizar el virus del mosaico del tabaco.
1939	Delbrück	Inició el estudio sistemático de los bacteriófagos.
1941	Hirst	Demostró la hemaglutinación de los virus de la influenza.
1949	Enders	Demostró que los poliovirus se multiplican en los cultivos, dentro de células distintas de las neuronas y las destruyen.

Fecha aproximada	Principales autores	Descubrimiento
1951	Gross	Produjo leucemia linfoide en ratones con extractos sin células obtenidos de tumores de ratones leucémicos.
1952	Hershey y Chase	Demostraron que bastaba el ADN del bacteriófago para la duplicación de éste.
1953	Salk	Creó la vacuna de virus inactivados de la poliomielitis.
1955	Sabin	Creó la vacuna de virus atenuados de la poliomielitis.
1957	Colter	Extrajo de virus animales el ácido nucleico con poder infectante.
1957	Stewart, Eddy, Gochenour, Bor-gese y Grubbs	Aislaron el virus del polioma en cul-tivos celulares.
1958	Burkitt	Estudió el linfoma de mandíbula en niños africanos.
1955-1960	Enders	Creó la vacuna de virus atenuados contra el sarampión.
1962	Rauscher	Describió la leucemia linfoide de ra-tones producida por virus.
1962	Trentin, Yabe y Taylor	Señalaron que los adenovirus humanos producen tumores en cricetos recién nacidos.
1964	Temin	Emitió la hipótesis de que el ARN vi-ral podría dirigir la síntesis de provirus de ADN (transcriptasa rever-sa).
1964	Epstein y Barr	Señalaron la intervención de un herpes virus con el linfoma de Burkitt.
1968	Blumberg	Identificó el Ag Australia, asocián-dolo con hepatitis post-transfusional y más tarde específicamente a hepati-tis tipo B.
1969	Huebner y Todaro	Presentaron la hipótesis oncogénica viral.
1970	Baltimore y Temin	Obtuvieron pruebas de la existencia de la transcriptasa inversa.
1970	Spiegelman	Demostró que en los virus oncogéni-cos se sintetiza un híbrido de ARN: ADN.
1972	Hehlmann, Kufe y Spiegelman	Demostraron que en las células de en-fermos leucémicos existen series ho-mólogas de ARN del virus de la leuce-mia de Rauscher.

DEFINICION DE VIRUS Y SU ESTRUCTURA

Una definición reciente del término virus (Luria y Darnell, 1977) describe a los mismos como entidades cuyo genoma es ácido nucleico, ADN o ARN, que se reproduce dentro de las células vivientes y que utilizan la maquinaria de síntesis celular para dirigir la de partículas especializadas, los viriones que contienen el genoma vírico y lo transfieren a otras células.

Los aspectos verdaderamente distintivos de los virus respecto a otros organismos, parásitos intracelulares obligados como las Rickettsias, radican fundamentalmente en su organización, composición y en sus mecanismos de replicación, incluyendo que :

- 1.- Las partículas víricas o viriones contienen solamente un tipo de ácido nucleico que puede ser ADN o ARN.
- 2.- Las proteínas específicas de los virus se sintetizan utilizando los ribosomas del huésped.
- 3.- Los virus se multiplican por síntesis independiente de sus partes constituyentes (proteínas, ácido nucleico, etc.) que son posteriormente reunidas para dar lugar a la formación de nuevas partículas víricas, a diferencia de otros microorganismos que realizan el proceso por crecimiento y división.

Los virus están constituidos esencialmente por ácido nucleico (el genoma viral) rodeado de una envoltura proteica llamada "cápside" y cuya función es: proteger al ácido nucleico del medio ambiente extracelular, facilitar su entrada en las células huésped y en muchos virus animales juega un papel importante durante la primera etapa de la infección. La cápside puede estar formada de moléculas de proteínas similares llamadas "unidades estructurales" o capsómeros (agregados de unidades estructurales). La estructura completa, o sea, el ácido nucleico cubierto por la cápside, constituye la Nucleocápside.

Algunos virus constan de nucleocápsides desnudas, en tanto que otros poseen una envoltura o "peplos", aparentemente de composición similar a la de la membrana de las células que infectan, y conociéndose entonces estos, como "virus con envoltura". Algunas envolturas poseen "espículas" o "peplómeros", generalmente de naturaleza glicoproteica, y que son proyecciones superficiales de diferentes longitudes, separadas por intervalos regulares y que parecen obedecer a algún código propio del virus. (Figura No. 1).

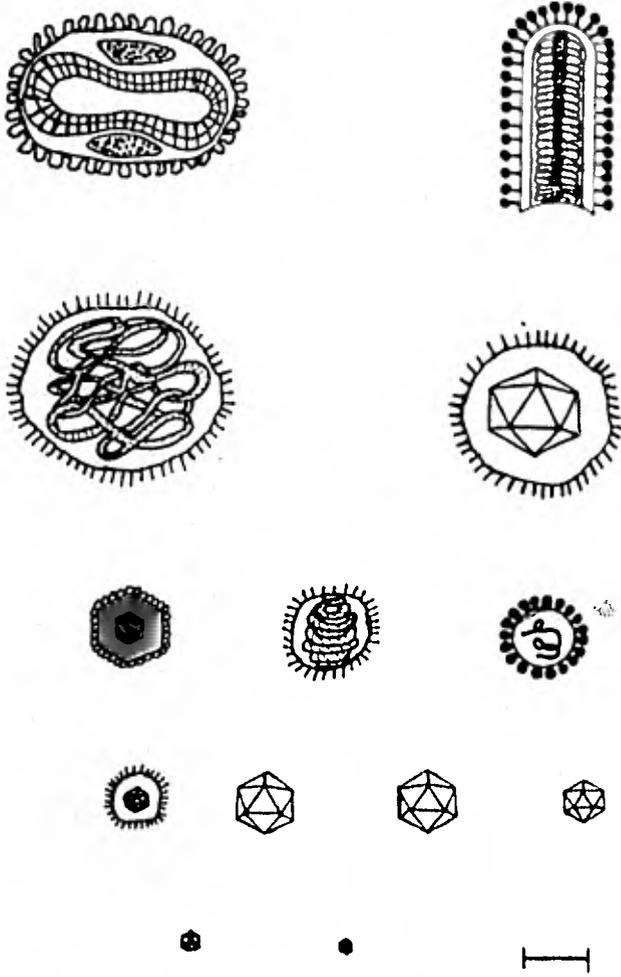


Figura No. 1

Los estudios al microscopio electrónico han permitido demostrar que los virus tienen diversos tipos morfológicos:

1.- Estudios realizados por Klug y Caspar (1965) han demostrado que algunos virus semejan pequeños cristales; estos virus existen como partículas icosaédricas y su forma está determinada por la cápside. Algunos ejemplos de virus con ésta forma son los Picornavirus, adenovirus, papovavirus y el bacteriofago OX174 (Figura No. 2).

2.- Otros virus forman largas varillas. Su cápside es una cavidad cilíndrica en cuyo exterior puede distinguirse una fina estructura helicoidal. Se denominan virus helicoidales y dentro de ellos se encuentran el virus del mosaico del tabaco y el bacteriofago M13 (Figura No. 3).

3.- Virus de morfología más compleja en los que la nucleocápside (icosaédrica ó helicoidal) está rodeada por una envoltura libre, resultando teóricamente esféricos y muy pleomórficos, debido a que la envoltura no es rígida.

En cuanto al ácido nucleico, en las nucleocápsides icosaédricas constituye un núcleo central y en algunas cápsides helicoidales está localizado en una ramura en el interior de la cápside cilíndrica. (Figura No. 4).

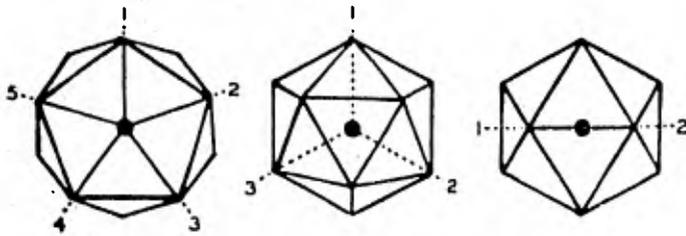


Fig. No. 2 -- Estructura de los virus icosaédricos

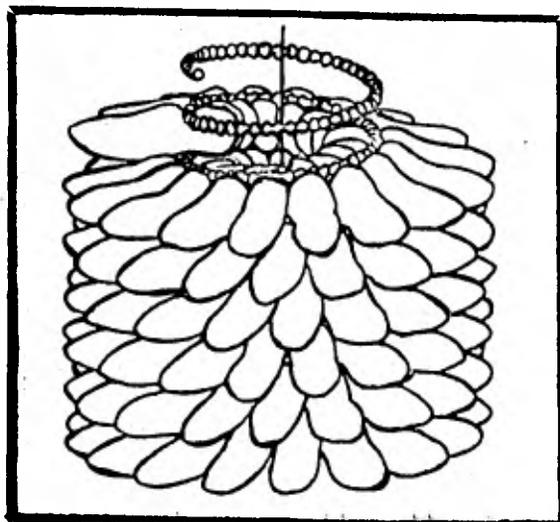


Fig. No.3.—Parte de la hélice o nucleocápside de un virus de simetría helicoidal (virus del mosaico del tabaco).

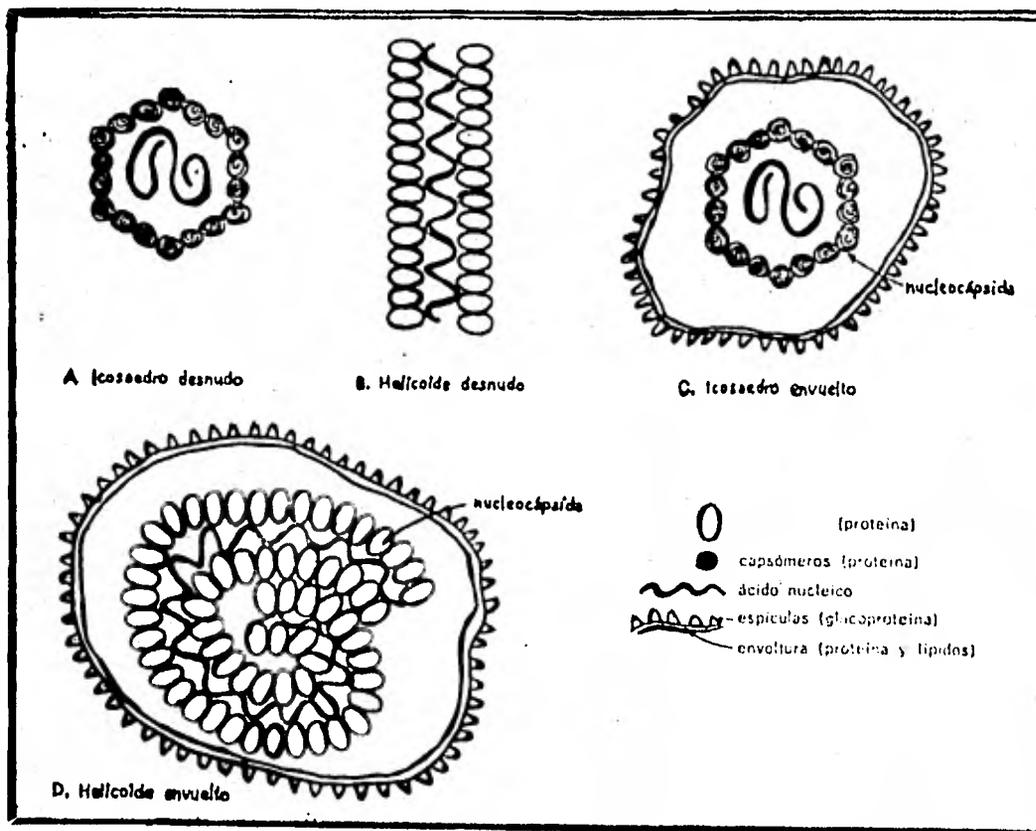


Fig. No. 4

¿ SON LOS VIRUS ORGANISMOS VIVOS ?

Aclarar éste punto, como sucede en estos casos, resulta difícil puesto que las dificultades estriban principalmente en definir la vida misma y resultan ser más de tipo semántico que sustancial.

Según Lwoff (1957) un organismo es una unidad independiente de estructuras y funciones integradas e independientes. De acuerdo a éste criterio, un virus no es un organismo, como tampoco lo son los organelos celulares -- por sí solos, ya que carecen de independencia para poder expresarse. Si se toma como una definición diferente, que un organismo es "la unidad elemental de una línea continua con una historia evolutiva individual", entonces un virus tiene una historia evolutiva relativamente independiente -- por su peculiar adaptación de un huésped a otro, aún de especie a especie, género o -- phylum-- y resulta "más vivo" y más organismo que cualquier organelo celular ya sea mitocondria, cloroplasto, etc.

Lwoff considera también que un material viviente lo es, si después de aislado, retiene una configuración específica que puede ser reintegrada dentro del ciclo de expresión del material genético. Entonces una molécula de proteína no es viviente, pero ya que un ácido nucleico puede ser copiado y transcrito, entonces puede considerarse con vida, y esto es lo que sucede -- con el genoma de los virus cuando se replican dentro de las células que infectan.

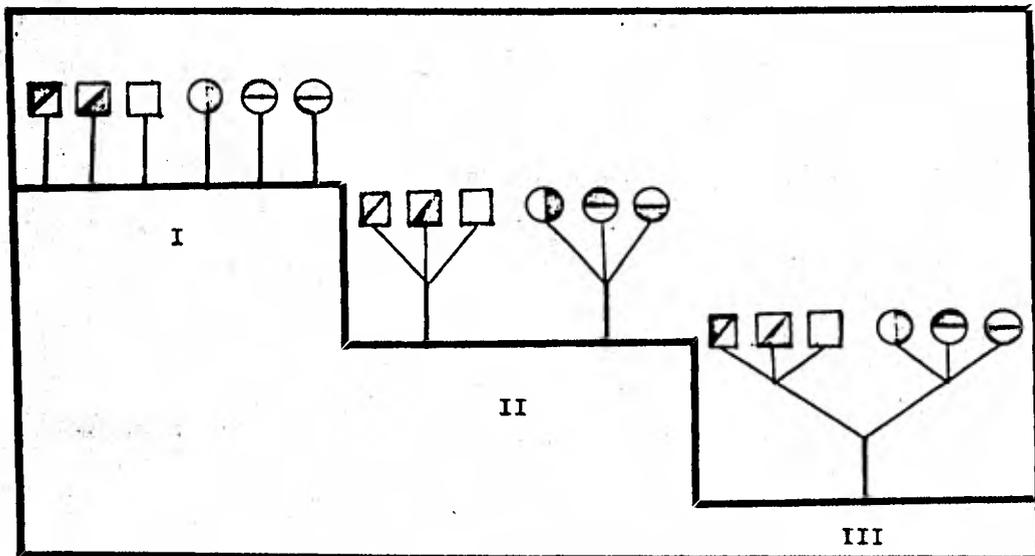
También desde el punto de vista de la enfermedad infecciosa, los virus son seres vivos, dado que pueden causar infección en huéspedes apropiados; sin embargo, fuera de la célula, las partículas víricas son metabólicamente inertes y no son más vivas que un fragmento de ADN. Cuando en 1935, Stanley cristalizó el virus del mosaico del tabaco, se suscitaron amplios debates -- sobre si tal sustancia cristalizable era un ser vivo, o solo una molécula -- de nucleoproteína, pero como Pirie puntualizó, estas discusiones mostraban que algunos científicos tenían una visión más teológica que práctica del -- significado de la palabra "vida". De modo que según el contexto, los biólogos pueden considerar los virus como microorganismos excepcionalmente simples ó como compuestos químicos excepcionalmente complejos.

Respecto a como se originaron los primeros virus o de donde surgieron, existen dos conceptos fundamentales: 1) que los virus evolucionaron de células, y 2) que los virus descienden de un organismo precelular de vida libre, y llegaron a convertirse en parásitos intracelulares o simbioses; quienes --

proponen esto defienden la teoría celular que considera a los virus como un resultado de la evolución regresiva de las células.

V.I. Agol (1976) postula que el origen de los virus, no puede ser comprendido si no se conoce el origen y evolución de los sistemas genéticos celulares, y pone como ejemplo, la relación genética que según él existe entre los oncornavirus, protovirus y células; asume que los oncornavirus se formaron de una transferencia intercelular de ARN, según propone Temin (1971) con base en el descubrimiento que hizo sobre la transcripción reversa del ARN.

La hipótesis de que el origen de los virus fué a partir de un sistema genético celular, es una posibilidad atractiva, pero no es la única. Algunos sistemas ya definidos, los cuales transfieren información genética normal de célula a célula (plasmidos, episomas, etc.), son posibles candidatos para un papel de predecesores de los virus.



Esquema que ilustra la relación hipotética en el origen de los virus.

- I.- Los virus tienen un origen independiente.
- II.- Diferentes virus se originan de diferentes grupos.
- III.- Diferentes virus se originan de un antecesor viral común.

Estas hipótesis no son humanamente reproducibles, por lo que no se pueden tomar como absolutamente ciertas y no dejan de ser especulaciones.

PROPIEDADES DE LOS VIRUS

La mayoría de los virus presentan ciertas propiedades importantes como son: hemaglutinación, acción neuramínica, actividad hemolítica y sensibilidad a disolventes, todas éstas asociadas con los componentes de la envoltura viral (proteínas, lípidos, carbohidratos y neuraminidasas), los cuales se consideran virus-específicos sintetizados por el genoma viral, ya que nunca se han encontrado como componentes celulares típicos normales.

HEMAGLUTINACION. Muchos virus desde los más pequeños como los picornavirus hasta los de mayor tamaño como los poxvirus, pueden aglutinar eritrocitos. La hemaglutinación es causada por los mismos virus, sin embargo en algunos casos como en los poxvirus, es causada por hemaglutininas producidas durante la multiplicación vírica.

Aunque el aspecto de los eritrocitos que son aglutinados y las condiciones en que se produce la hemaglutinación difieren para los distintos virus, el fenómeno básicamente es similar en todos los casos. Un virus y/o sus hemaglutinas se unen simultáneamente a globulos rojos, estableciendo puentes entre ellos, y si la cantidad de partículas virales es adecuada se forman puentes múltiples que dan lugar a la formación de acúmulos de gran tamaño. La hemaglutinación se debe a la unión de sitios receptores específicos de los virus con los receptores de la membrana de los eritrocitos.

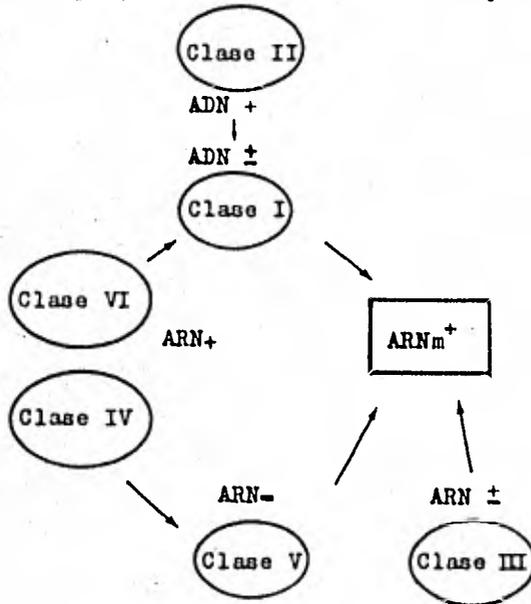
ACCION NEURAMINICA. Algunos virus, como los ortomixovirus y paramixovirus, además de la propiedad de hemaglutinación, poseen neuraminidasa, en la superficie de sus cubiertas, la cual inhibe la hemaglutinación porque separa al ácido N-acetilneuramínico de los receptores de los eritrocitos, de modo que después de aglutinados, los virus pueden eluirse espontáneamente de ellos, a 37°C.

La acción neuramínica puede inactivarse a 0°C, por lo que a ésta temperatura, la unión entre los virus y eritrocitos es más estable.

SUSCEPTIBILIDAD A DISOLVENTES ORGANICOS. La presencia de una envoltura lipídica en los virus hace que estos sean sensibles a la acción de los disolventes de grasas. La extracción de ortomixovirus, por ejemplo, con disolventes como heptano o éter de petróleo, remueve un poco los lípidos, principalmente colesterol, pero no degrada o inactiva a los virus. Sin embargo la extracción con éter principalmente en presencia de detergentes, remueve completamente los lípidos (cerca del 20% de la partícula) y degrada a estos virus.

CLASIFICACION

Los virus presentan una increíble diversidad tanto en su morfología como en la estructura del ácido nucleico, el modo de infección, la regulación de su desarrollo etc. En tales circunstancias, parece imposible descubrir cualquier concepto unificador, que pudiera simplificar la discusión sobre el proceso de replicación viral. Sin embargo, recientemente, Baltimore (1971) ha propuesto una elegante clasificación de todos los virus, basándose en el modo de replicación viral y expresión del ácido nucleico. En esta clasificación al ARN_m se le asigna un papel central ya que la síntesis de proteínas se realiza por el mismo mecanismo en todas las células. Todos los virus, pues, se dividen en grupos, estando cada grupo caracterizado por el patrón de la síntesis de ARN_m . En función de esto existen seis grupos, de acuerdo 1) al ácido nucleico que contienen y 2) al mecanismo de transcripción del ácido nucleico :



- I.- Virus con ADN de cadena doble.
- II.- Virus con ADN de cadena sencilla.
- III.- Virus con ARN de cadena doble.
- IV.- Virus con ARN de cadena sencilla, siendo su ARN_m idéntico en secuencia de bases al ARN del genoma.
- V.- Virus con ARN de cadena sencilla, con secuencia de bases complementaria a la del ARN_m .
- VI.- Virus con ARN de cadena sencilla, con intermediario de ADN-ARN.

* ARN_m = ARN mensajero

a. Clase I. Los virus de ésta clase poseen un genoma constituido por ADN bicatenario. El ADN de estos virus se transcribe asimétricamente dando origen al ARNm. Es este un grupo heterogéneo que comprende a los fagos de la serie T, los fagos T impares, los bacteriófagos de E. coli y los virus animales que pertenecen a los grupos de los papovavirus, adenovirus y poxvirus.

b. Clase II. Los virus de la clase II poseen un genoma constituido por ADN monocatenario. El ARNm se transcribe a partir de un intermediario de ADN bicatenario de nueva síntesis. Este grupo viene representado por dos clases de fagos de pequeño tamaño con genomas circulares, OX174 y S13, además los fagos M13, f1 y fd, herpesvirus y parvovirus.

c. Clase III. Los virus pertenecientes a esta clase poseen un genoma de ARN bicatenario. El ARNm se sintetiza por transcripción asimétrica del genoma. Dentro de este grupo, los más conocidos son los reovirus, quedando incluidos en el mismo algunos virus de insectos y plantas.

d. Clase IV. Estos son virus de ARN de una sola cadena, cuyo ARNm es idéntico al ARN del virión. El ARN inicial puede actuar directamente como ARNm. Pertenecen a este grupo los fagos Q, R17, F2 y MS-Z.

e. Clase V. Los virus de esta clase poseen un genoma de ARN monocatenario. La mayor parte del virus si no es que todo resulta complementario del ARNm. Los virus de ARN de una sola cadena que se encuentran en esta clase difieren de los de la clase IV por el hecho de que el ARN complementario al ARN del virus tiene funciones de ARNm. En esta categoría entran tres clases de virus: los rabdovirus, paramixovirus y ortomixovirus.

f. Clase VI. Estos virus están constituidos por un genoma de ARN monocatenario, pero tienen además híbridos de ARN-ADN y existen variedades de ADN de doble cadena como intermediarios en el ciclo de replicación. No se ha podido distinguir aún el ARNm, pero parece ser idéntico al ARN del genoma viral. Los virus tumorales con ARN son los únicos miembros de este grupo (leucovirus y oncovirus).

NOMENCLATURA Y TAXONOMIA DE LOS VIRUS

Para designar a los virus y clasificarlos dentro de familias, Gibbs y cols. (1966) y Wildy (1971) propusieron un sistema basado en los principios "adansonianos" del agrupamiento de todos los microorganismos que tienen ciertas características comunes (Adanson 1757), e idearon los Criptogramas. Cada criptograma

consiste de cuatro pares de términos, cada término con el siguiente significado:

Primer par: Tipo de ácido nucleico⁺ / Cadenas del ácido nucleico⁺⁺

⁺R = ARN ó D. = ADN

⁺⁺1 = de cadena sencilla ó 2 = doble cadena

Segundo par: PM del ácido nucleico / Porcentaje del ácido nucleico
(en millones de dalton) / en la partícula

Tercer par: Simetría de la envoltura / Simetría de la
ó partícula / nucleocápside

S = esférica

E = Elongada con extremos no redondeados

U = Elongada con extremos redondeados

X = Compleja ó ninguna de las anteriores

Cuarto par: Clase de huésped infectado⁺ / Vector⁺⁺

⁺V = vertebrado

⁺⁺O = sin vector

I = invertebrado

Di = Díptero

S = plantas

Ac = garrapatas o ácaros

A = algas

Ap = hemíptero

B = bacterias

Si = moscas

F = hongos

Ejemplo: Criptograma de un herpesvirus: (D/2; 80-100/7; S/S; V/O)

En cuanto a la taxonomía viral, su progreso está representado por la publicación del tercer reporte del Comité Internacional sobre Taxonomía de Virus (ICTV). Los descubrimientos, la investigación intensa, así como la caracterización de muchos virus animales han permitido establecer y definir ampliamente los grupos de estos agentes. En el reporte del ICTV se revisa en forma somera el estado actual de la taxonomía de los virus, tomando en cuenta los hallazgos sobre sus propiedades y las nuevas propuestas relativas a la denominación de grupos y subgrupos, y cuyos miembros se describen posteriormente al tratar cada familia, haciendo énfasis en aquellos virus que infectan al hombre y animales domésticos además de ciertos virus que tienen una especial importancia para las determinaciones taxonómicas ó para el conocimiento de transmisores potenciales a huéspedes vertebrados. Las tablas 1 y 2 muestran las principales características que se toman en cuenta para agrupar a los virus en las familias correspondientes. (Melnick J.L. 1980)

TABLA #1. Características de los virus de ADN

	ADN				
	Cúbica			Compleja	
Centro del ácido nucleico					
Simetría de la cápside					
Virión: desnudo o cubierto	Desnudo		Cubierto	Capas Complejas	
Lugar del agrupamiento de la cápside ¹	Núcleo		Núcleo	Citoplasma	
Lugar de la envoltura de la nucleocápside			Membrana nuclear		
Reacción al tratamiento con éter	Resistente		Sensible	Resistente	
Número de capsómeros	32	72	252	162	
Diámetro del virión (nm) ²	18-22	43-53	70-90	100 ³	230 x 300
Peso molecular del ácido nucleico en el virión (x10 ⁶)	1.4	3-5	23	54-92	160
Grupo de virus	Parvo- (Picorna) virus	PAPOVA- virus ⁴	ADENO- virus	VIRUS HERPÉTICO	Pox virus
Miembro típico ⁵	Adeno- virus satélite asociado	SV40	Adeno- virus	Virus herpético simple	Virus de vaccinia

¹ En los virus de ADN en los cuales el agrupamiento de la cápside tiene lugar en el núcleo, una fase de réplica idéntica ocurre en el citoplasma, como lo revela la detección del ARNm asociado a polirribosomas.

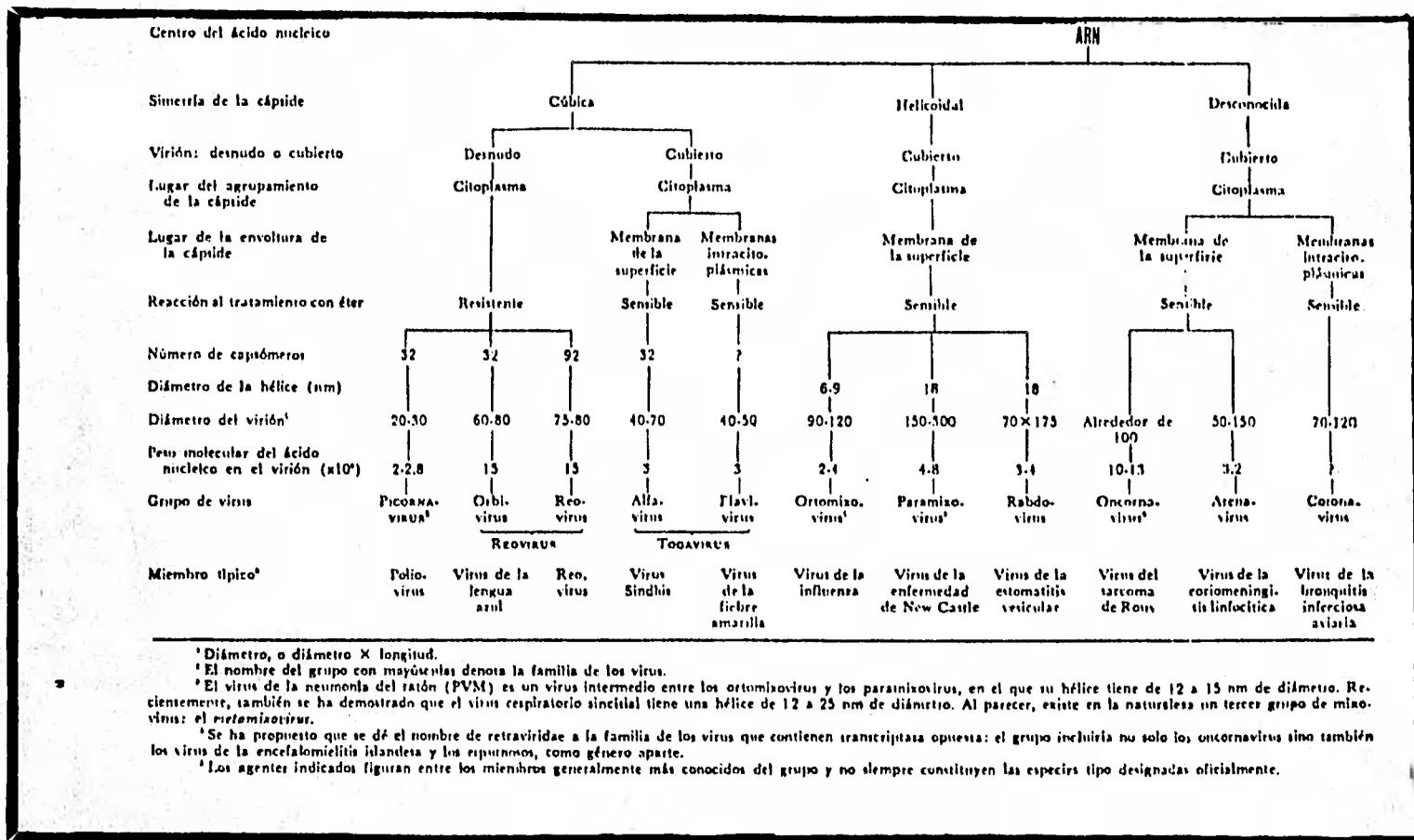
² Diámetro ó diámetro X longitud

³ El virus desnudo tiene 100nm., de diámetro; sin embargo los viriones cubiertos pueden tener hasta a 150nm.

⁴ El nombre del grupo con mayúsculas denota la familia de los virus

⁵ Los agentes indicados figuran entre los miembros del grupo generalmente mas conocidos y no siempre constituyen las especies tipo designadas oficialmente.

TABLA # 2. Características de los virus de ARN



¹ Diámetro, o diámetro X longitud.

² El nombre del grupo con mayúsculas denota la familia de los virus.

³ El virus de la neumonía del ratón (PVM) es un virus intermedio entre los ortomixovirus y los paratimovirus, en el que su hélice tiene de 12 a 15 nm de diámetro. Recientemente, también se ha demostrado que el virus respiratorio sincitial tiene una hélice de 12 a 25 nm de diámetro. Al parecer, existe en la naturaleza un tercer grupo de mixovirus: el metamixovirus.

⁴ Se ha propuesto que se dé el nombre de retraviridae a la familia de los virus que contienen transcriptasa inversa: el grupo incluiría no solo los oncornavirus sino también los virus de la encefalomielitis islemética y los epurinos, como género aparte.

⁵ Los agentes indicados figuran entre los miembros generalmente más conocidos del grupo y no siempre constituyen las especies tipo designadas oficialmente.

SENSIBILIDAD A AGENTES FISICOS Y QUIMICOS

CALOR. La infectividad de los virus generalmente se destruye por calentamiento a 50-60°C durante 30 min. El calor actúa principalmente a través de la desnaturalización de las proteínas de la cápside. Las proteínas se desnaturalizan o despliegan sin que se rompa su cadena fundamental por acción de altas temperaturas ó de otros agentes. La desnaturalización determina que las proteínas pierdan su actividad biológica. El material genético de la partícula viral puede también alterarse por acción del calor debido a la expansión diferencial del ácido nucleico y nucleoproteínas.

La infectividad de una partícula vírica disminuye rápidamente al aumentar la temperatura, pero existen algunos virus como los poliovirus tipo I que se vuelven más estables al calor en soluciones levemente acidificadas; así, los poliovirus resisten mas el calentamiento a 50°C en ácido acético, oxálico o láctico (pH 4-5) que si se encuentran en agua destilada (Wallis y Melnick, 1962).

Por otro lado, también existen virus particularmente resistentes, como el virus del polioima (Brodski et. al. 1959) y el virus de la hepatitis (Andrews, 1964), que pueden soportar los 100°C durante algunos minutos. Además, los virus pueden ser preservados a temperaturas de subcongelación y algunos resistir la liofilización y conservarse en estado seco a 4°C.

ESTABILIZACION CON SALES. La estabilidad de los virus puede aumentar - gracias a la presencia de diversas sales (especialmente de magnesio) en concentraciones molares; esto quiere decir que no son inactivadas aún por el calentamiento a 50°C durante una hora. También pueden ser estabilizados con proteínas como cisteína o polisulfuros. La estabilidad de los virus es de particular importancia en la preparación de algunas vacunas, como la de la poliomielitis, la cuál debe congelarse para conservarse, pero si se añaden sales, puede mantener su potencia durante varias semanas a temperatura ambiente. Las siguientes son ejemplos de algunas sales estabilizantes y los virus para las cuales se emplean:

$MgCl_2$	$MgSO_4$	Na_2SO_4
Poliovirus	Mixovirus	Herpes virus
ECHOvirus	Virus de la Influenza	Herpes simple
Coxsackievirus	Paramovirus	
Rinovirus	Virus del Sarampión	
Reovirus	Virus de la Rubéola	

pH . Los virus son generalmente estables entre pH de 5 a 9. Los cambios de pH actúan a nivel de las proteínas que forman cápside provocando su desnaturación. Puesto que las proteínas están formadas de aminoácidos, cuyos grupos carboxilo o amino terminal poseen una carga (positiva, negativa o neutra), según la concentración de iones H^+ que se encuentren en el medio, o sea el pH, al haber cambios en los valores de éste, los aminoácidos (sus grupos OH, NH_2 ó sus radicales SH en algunos casos) se ionizan, provocando que la proteína se despliegue hasta su estructura primaria y pierda así su actividad biológica.

RADIACIONES ULTRAVIOLETA. La luz ultravioleta empleada a una longitud de onda de 260nm., actúa principalmente sobre los ácidos nucleicos. La forma más corriente de lesión por irradiación ultravioleta consiste en la producción de dímeros de timina, en la que dos moléculas de timina adyacentes, en la cadena del ácido nucleico, resultan unidas covalentemente por un anillo de ciclobutano. Los dímeros de timina detienen la replicación del ADN, pero estas lesiones pueden ser reparadas por una serie de mecanismos enzimáticos y genéticos, de modo que resulta un agente poco útil para la inactivación vírica, sin embargo se usa a menudo como procedimiento de esterilización, empleándose también en algunas ocasiones junto con formaldehído ó calor para la esterilización de vacunas virales (Taylor et. al. 1957).

Brodski y cols. (1959), comparan las sensibilidades de varios virus expuestos a irradiaciones bajo las mismas condiciones y han observado que el virus del polio es igualmente resistente que los adenovirus tipo III, aproximadamente 40 veces más resistente que el virus del fibroma de Shope y 10 veces más que los poliovirus.

INACTIVACION FOTODINAMICA. Ciertos colorantes, tales como naranja de acridina, proflavina, azul de metileno y rojo neutro, pueden penetrar a los virus y unirse a su ácido nucleico, de modo que estos pueden inactivarse por acción de la luz visible. La mayoría de los virus se hacen fotosensibles al mezclarse con el colorante, por ej. los poliovirus; deben replicarse en presencia del colorante incluyendo así en su cápside, la cual sigue siendo sensible en ausencia del colorante, pero pierde su fotosensibilidad al infectar una célula y liberar el ácido nucleico.

FORMALDEHIDO. El tratamiento con formaldehído parece tener un pequeño efecto en las propiedades antigénicas de los virus, por esta razón, la inactivación con este agente ha sido extensamente estudiada, particularmente para la producción de vacunas con poliovirus.

El formaldehído reacciona con varios grupos funcionales de las proteínas, incluyendo los grupos amino, guanidil y amido, afectando los enlaces peptídicos y varias estructuras de anillos; la estructura vírica se vuelve entonces menos permeable. Con el tiempo el formaldehído difunde al centro del virus afectando las nucleoproteínas, mientras que en la superficie, los cambios se hacen mas aparentes. El formaldehído reacciona también con el ácido nucleico, de modo que en general afecta la replicación de todos los virus. Las concentraciones usadas están en un rango de 0.05-5.0%, con periodos de exposición entre una hora y 5 días, a temperaturas de 18 a 37°C.

ENZIMAS. La mayoría de los virus son resistentes a la acción de la tripsina, pero algunos de ellos resultan sensibles a ella como ciertos togavirus y mixovirus. Todos los virus son inactivados por enzimas de especificidad mas amplia como la pronasa, que es una enzima proteolítica.

Los virus con cubierta pueden ser inactivados también por ciertas enzimas lipolíticas, como la fosfolipasa A que actua sobre los togavirus, mientras que el virus de la influenza, tratado con fosfolipasa C se hace sensible a la inactivación por la proteasa.

RAYOS X. Este tipo de radiaciones son adsorbidas por los átomos de moléculas de sustancias que existen dentro del mismo virus ó en el medio, produciendo por excitación de los electrones, radicales libres que afectan la actividad de las proteínas estructurales de los virus. Por acción de los Rayos X, a veces se producen sustancias químicas de vida corta y elevada capacidad reactiva que se producen tanto en el interior del virión como a su alrededor; estos productos inestables actúan sobre diversos componentes víricos (efecto directo). Las sustancias químicas producidas alteran también ciertos componentes del medio, dando lugar a venenos inactivantes que persisten durante mucho tiempo (efecto indirecto).

Los rayos X pertenecen a la categoría de agentes inactivantes universales (no selectivos), de modo que también resultan ser mutágenos especialmente poderosos, actuando sobre los ácidos nucleicos, ya que las mutaciones que producen no son reparables por mecanismos de recombinación, enzimáticos, etc.

β -PROPIOLACTONA. Esta sustancia, junto con el óxido de etileno, pertenece a la categoría de agentes alquilantes, los cuales tienen un efecto marcado sobre proteínas y ácidos nucleicos, a través de la alquilación de los grupos sulfhidrilos, amino, carboxilo, hidroxilo y fenol de alguna de las bases del ácido nucleico, provocando así un error en la transcripción.

CLORO Y IODO. El cloro y el yodo son poderosos agentes oxidantes que actúan a un pH ácido sobre las proteínas estructurales de los virus, Hsu(1964), encontró que el efecto inactivante del yodo se debe a la reacción con la capa proteica solamente y que el ácido nucleico que se extraía de los virus era resistente. Por otro lado, este mismo ácido nucleico se destruía por acción del cloro y bromo. El yodo se usa para inactivar preparaciones, por ejemplo, de virus de la influenza y poliovirus (Gershienfeld, 1955).

BIBLIOGRAFIA

- Aoton, J., Kucera L., Myrvik Q., Weiser R.: Virología. 1ra. edición. Ed. Interamericana, México D.F., (1977).
- Agol, V.I.: An aspect of the origin and evolution of viruses. *Life* (7) : 119-132, (1976).
- Horne, R.W.: The structure of viruses. *Sci. American*. 208: 48-56, (1963).
- Fraenkel Conrat: The chemistry and biology of viruses. 3ra. edición. Academic Press N.Y. and London, (1971).
- Klug A., Caspar D.L.D.: The structure of small viruses. *Advances virus research*. 7: 225-325, (1965).
- Kuchler, R.J. : Biochemical methods in cell culture and Virology. Dowden, Hutchinson Ross., Inc. USA, (1977).
- Luria, S.E., Darnell, E. : General Virology. 3ra. ed. Ed. John Wiley and Sons, (1978).
- Lowff A. : The concepts of virus. *J. Gen. Microbiol.* 17: 239-253, (1957).
- Melniok J.L. : Taxonomy of viruses. *Prog. Med. Virol.* 23: 91-96, (1980).
- Kaplan H.S. y Moses L.E. Biological complexity and radiosensitivity. *Science* 145: 21-25 (1964).
- Pennington T.H. and D.A. Ritchie : Virología Molecular. Ed. Omega, (1979).
- Primrose S.B. : Introducción a la Virología Moderna. 1ra. Edición. H. Blume Ediciones, (1976).

Stanley, W.M. : Isolation of a cristalline protein possessing the properties of the tobacco mosaic virus. Science 81, 641- 644, (1935).

Temin M.H. : The DNA provirus hypothesis. Sci. (192): 1075-1080, (1976).

Wacker A. Molecular mechanisms of radiation effects. Progr. Nucleic Acid Res. 1:369-399-(1963).

CAPITULO II . INTERACCION VIRUS - HUÉSPED

Una vez analizadas las características morfológicas, las propiedades químicas y físicas, así como la taxonomía de los virus, dedicaremos este capítulo al estudio de las interacciones virus-huésped, especialmente la relación - que se establece entre virus-célula, porque aún en organismos superiores, los fenómenos críticos de la infección suceden a nivel celular, y esto constituye por lo tanto, el aspecto verdaderamente biológico de la virología, puesto que los virus pueden considerarse como partículas prácticamente inertes, cuando no se encuentran dentro de la célula huésped.

La interacción virus-huésped, se establece cuando un virus encuentra el medio apropiado para infectar a las células y puede estudiarse desde tres puntos de vista:

Nivel virus- célula

Nivel virus-organismo completo (Patogenia de las infecciones virales)

Nivel interacción virus-comunidad (Epidemiología).

INTERACCION VIRUS- CELULA

Los virus son partículas sin movimiento y por tanto dependen de medios pasivos para su transmisión de una célula a otra. Durante su existencia, los virus están expuestos a los factores del medio ambiente (calor, pH, enzimas, anticuerpos, etc.) que puedan bloquear su infectividad, pero a pesar de su estructura simple y tamaño limitado del genoma, muchos virus han mostrado una notable capacidad de superar estos riesgos.

Los fenómenos detallados que tienen lugar en células infectadas con virus difieren para distintos sistemas virus-célula huésped, los resultados también pueden ser muy diferentes, yendo desde una multiplicación del virus y una rápida destrucción de la célula huésped, hasta una asociación entre el virus y la célula infectada.

En orden cronológico, el mecanismo de infección viral consta de las siguientes etapas:

1. Adsorción
2. Penetración
3. Pérdida de la envoltura (denudamiento)
4. Fase de eclipse
5. Replicación
6. Maduración y liberación.

Los fenómenos que caracterizan a cada fase, así como su duración, varían en función del ácido nucleico que forma el genoma viral así como de la temperatura de incubación y de la variedad celular que actúa como huésped.

Un aspecto cuantitativo importante de la infección viral es la "multiplicidad de infección". En una suspensión celular mezclada con una muestra vírica, las células individuales se infectarán por un número diferente de virus y es importante conocer la proporción de células infectadas por 1, 2 ó mas virus. Estas proporciones dependen del número promedio de virus por célula, que recibe el nombre de Multiplicidad de Infección (m), y en la que las partículas importantes son solo las que tienen capacidad infectante; m está en relación con el número total de virus (N) y de células (C), mediante la siguiente ecuación:

$$m = \frac{a N}{C} \quad a = \text{proporción de virus que inicia la infección.}$$

FASES DE LA INFECCION

ADSORCION. El primer paso del proceso infectivo es la adsorción, ya que para que se inicie la infección el virus debe establecer contacto con las células sensibles y fijarse a ellas. El contacto inicial entre los virus y las células se debe al movimiento browniano. Las fuerzas que explican la fijación de los virus sobre la membrana celular pueden ser de naturaleza electrostática por ejemplo se ha visto que los grupos fosfato muy ácidos sobre la superficie celular establecen interacciones con grupos amonio de los virus. Los grupos -sulfhidrilo de las proteínas de la cápside de ciertos enterovirus también intervienen en dicha unión, pues se ha observado que los agentes que bloquean a los radicales SH, suprimen el poder infectivo de dichos virus.

El contacto de los virus con la célula no siempre tiene como resultado su fijación. En algunos sistemas constituidos por células y virus, existen "sitios receptores" sobre la superficie celular, teniendo el virus afinidad por estos sitios y llamándose las porciones correspondientes en los virus "sitios reactivos" o de fijación del virus. Se han encontrado sitios receptores para integrantes del grupo de los picornavirus, ortomixovirus y leucovirus, en el caso de los ortomixovirus se trata de mucoproteínas parecidas a los receptores de los eritrocitos que intervienen en la hemaglutinación, mientras que en el caso de los poliovirus son de naturaleza lipoproteica.

La base molecular de la interacción virus-célula, no se ha aclarado, pero se puede establecer una analogía con las reacciones del tipo Ag-Ac ó enzima--sustrato. Por otro lado muchos virus animales aglutinan a los glóbulos rojos

y este fenómeno ha sido utilizado como un sistema modelo en el estudio de la adsorción vírica.

PENETRACION. Los virus pueden entrar a las células por lo menos por cuatro mecanismos: 1) Viropexis activa del virus, que ha sido demostrada por estudios secuenciales al microscopio electrónico, 2) otros virus pueden entrar a las células mediante fusión o interacción de la envoltura viral de lipoproteínas con la membrana celular, teniendo como resultado esta fusión, una alteración tanto de la envoltura viral como de la membrana celular, en el punto de contacto y permitiendo que la nucleocápside sin envoltura pueda pasar directamente al citoplasma. 3) En ocasiones se observa una interacción del virus con los sitios receptores de la membrana celular y se piensa que las enzimas de la superficie celular inician la destrucción de la envoltura, cuya consecuencia es la liberación directa del ADN o ARN al interior de la célula. 4) Algunos virus entran directamente a las células por penetración del virus entero.

Los virus animales y bacterianos han adoptado mecanismos completamente diferentes para la penetración de sus genomas a la célula huésped, debido probablemente a las distintas propiedades de la gruesa y rígida pared bacteriana en comparación con la delgada y móvil membrana de la célula animal, motivo por el cual en estas últimas la infección se efectúa por viropexis, mientras que en el caso de los bacteriófagos solo es inyectado el genoma, ADN ó ARN, según demostraron los experimentos de Hershey y Chase en 1952.

La infección viral de las plantas ocurre por medios bastante diferentes a los referidos para bacterias y animales. La mayoría de las plantas tienen paredes celulares rígidas de celulosa, y por lo consiguiente, los virus, se introducen en el citoplasma de la célula por algún proceso traumático. La transmisión de la mayoría de los virus de plantas es un proceso altamente específico, que requiere la participación de determinados vectores animales (pulgonas ácaros y nemátodos).

CONSECUENCIAS DE LA PENETRACION.

Infección abortiva. Puede suceder que la célula infectada posea cierto tipo de enzimas (ribonucleasa o desoxiribonucleasa) que sean capaces de destruir al virus y evitar que este siga su replicación, conociéndose éste fenómeno como "Infección abortiva a nivel celular".

Estado de latencia. Si la célula infectada no dispone de enzimas capaces de destruir al virus, tiene que tolerarlo, permitiéndole en algunos casos, que se replique con cierta lentitud, de modo que el virus pueda coexistir "pacifi-

camente" dentro de la célula. A éste fenómeno se le conoce como "Latencia Viral". Los virus que se encuentran en estado latente, no alteran las actividades metabólicas celulares y se pueden mantener así indefinidamente. Algunos virus, por ejemplo el del herpes simple ó el de la varicela zóster, se vuelven latentes (ocultos), y pueden mas tarde activarse dando lugar a infecciones re^ucurrentes.

En otros sistemas el virus puede persistir sin reactivarse. No se sabe si el virus persiste bajo forma infecciosa a consecuencia de una replicación limitada, por encontrarse presentes anticuerpos neutralizantes, ó como un complejo no infectante que se trasmite de célula a célula.

Efecto citocida. Cuando la célula no puede defenderse de manera alguna, el virus se replica en ella rapidamente, apoderandose de su maquinaria genética y produciendose un número elevado de partículas víricas que destruyen a la célula. Este fenómeno puede repetirse dependiendo de las condiciones del huésped y se le llama "Efecto Citocida" (lisis celular).

Transformación celular. Algunos virus no quedan en latencia, ni destruyen a las células, sino que su genoma viral se integra al genoma celular, dando lugar a una transformación genética de la célula en la que se detectan diversos efectos: alteraciones de superficie tales como una diferente especificidad antigénica, aberraciones cromosómicas ó a nivel del crecimiento celular.

La transformación celular tiene gran importancia en los fenómenos oncogénicos ya que como P. Rous demostró en 1911, un virus puede ser capaz de producir tumores en animales.

PERDIDA DE LA ENVOLTURA. Antes de que los ácidos nucleicos puedan duplicarse, y antes de la síntesis proteica conforme al código del virus, es preciso suprimir la envoltura y la cápside alrededor del genoma.

Las primeras etapas pueden tener lugar durante la adsorción y penetración y dar como resultado la liberación del ADN o ARN al citoplasma. En otros virus provistos de envoltura, esta desaparece a través de una fusión a nivel de la membrana celular, y lo que penetra a la célula es la nucleocápside.

En algunos virus animales, la pérdida de la cubierta o de la cápside, se produce en las vacuolas fagocitarias debido a la acción de una proteasa lisosómica. En otros como los poxvirus y reovirus, la pérdida de la cubierta empieza inmediatamente después de la penetración, y termina su descapsulación por acción de enzimas víricas codificadas por ellos mismos.

FASE DE ECLIPSE. Dado que la infectividad del material genético de un virus, como ácido nucleico libre, es generalmente mucho menor que la del virión completo, la liberación del genoma vírico dentro de la célula huésped viene acompañada de un descenso de las unidades infecciosas. Este es el fenómeno de eclipse que se observa en todos los virus. En el caso de los virus sin envoltura, la fase de eclipse corresponde a una alteración de la cápside. En el caso de los virus encapsulados, la fase de eclipse es el resultado de la pérdida de la cubierta en el momento de la penetración.

REPLICACION. El entender los mecanismos por los que los genomas se replican, ocupa una posición fundamental en la virología moderna, ya que éste proceso es el que asegura la continuidad de la información genética, transmitida de una generación a otra, y la fidelidad de esto radica en el hecho de que la secuencia de bases de una doble cadena de ácido nucleico es complementaria a la de la otra molécula que le da origen; esto es válido para cadenas tanto de ADN como de ARN, ya sea de cadena sencilla o doble.

En general, los acontecimientos que tienen lugar en la célula infectada, se pueden dividir en cuatro etapas básicas: transcripción del genoma vírico, traducción del ARNm vírico, síntesis del genoma y acoplamiento de las partículas virales.

SÍNTESIS DEL GENOMA.

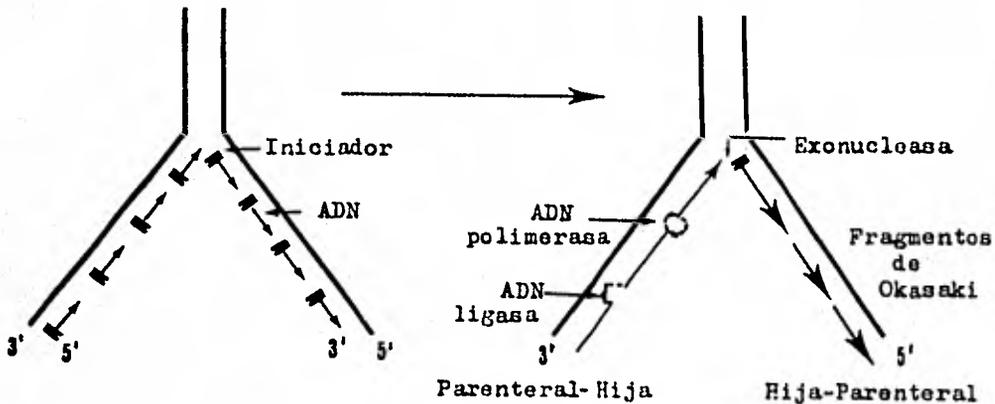
VIRUS CON ADN. El sitio de síntesis viral varía en función de la composición del virus, en cuanto a sus ácidos nucleicos y del grupo al cual pertenece, pero pueden hacerse algunas consideraciones generales: 1) la mayor parte de los desoxirribovirus sintetizan su ADN en el núcleo de la célula huésped, y sus componentes proteínicos en el citoplasma, a excepción de los virus de la viruela, que sintetizan todos sus componentes en el citoplasma, y 2) la mayor parte de los ribovirus sintetizan sus componentes en el citoplasma, excepto los mixovirus, algunos paramixovirus y leucovirus, en los que parte del ciclo tiene lugar en el núcleo.

La replicación viral, además de requerir del ARNm, precisa también de la producción de enzimas necesarias para catalizar la síntesis de los componentes virales y de las proteínas de maduración que se utilizan para el ensamblaje de los virus, pudiéndose agrupar las enzimas esenciales en 4 categorías: polimerasas, ligasas, nucleasas e hidrolasas.

Los primeros estudios sobre la ADN polimerasa mostraron que la enzima requiere de una molécula de ADN como molde, de acuerdo con las características de la replicación semiconservativa demostrada por Meselson y Sthal, además de requerir los cuatro desoxirribonucleótidos, un iniciador (que suele ser una cadena corta de ARN), iones Mg^{++} y ATP.

Todas las ADN polimerasas conocidas catalizan la replicación del ADN añadiendo nucleótidos al extremo 3' de la cadena en formación, promoviendo así el crecimiento en la dirección 5'→3'. Además hay evidencia de que la elongación de la cadena sucede por la síntesis de fragmentos cortos de 1000 a 2000 nucleótidos, llamados Fragmentos de Okasaki; estos fragmentos son estructuras en formación que se añaden a la cadena preexistente por acción de las ADN ligasas, de modo que por acción combinada de las ADN polimerasas y ADN ligasas se forma una cadena completa de polinucleótidos.

Las nucleasas incluyen las endonucleasas, que abren las cadenas de ADN original, y las exonucleasas, que separan secuencialmente los nucleótidos de los extremos de la cadena.



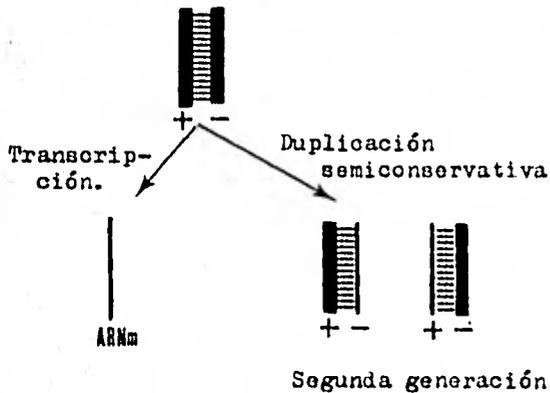
VIRUS CON ARN. Los genomas víricos de ARN, a diferencia del ARN celular, sirven como molde para su propia replicación. Esto significa que está implicado un nuevo tipo de enzima, capaz de sintetizar ARN a partir de ARN. Esta enzima recibe el nombre de ARN polimerasa dependiente de ARN. Además en ciertos tipos de virus (virus de la clase VI) existe una ADN polimerasa dependiente de ARN (transcriptasa inversa).

Como el ARN es de una sola cadena pudiera ser como se dijo antes, que sirviera como molde para su replicación, o de otro modo, que se formara una doble cadena de ARN transitoria, o bien que se produjera un intermediario de ADN y el mecanismo sería el inverso al de la síntesis de ARN a partir de ADN.

TRANSCRIPCIÓN. Transcripción es el proceso por el cual, el mensaje genético del ADN pasa al ARNm para ser llevado a los ribosomas en los que se efectúa posteriormente la traducción para la elaboración de proteínas.

Como todos los virus han de sintetizar ARNm, pueden agruparse en cuanto a las vías de síntesis de éste, según la Clasificación de Baltimore en la forma siguiente:

VIRUS DE LA CLASE I. (Con ADN de doble cadena). Probablemente el ADN bicatenario se replica en muchos de estos virus, por duplicación semiconservativa, actuando como molde, no solo para la síntesis del nuevo ADN, sino también para la transcripción a ARNm del cual dependerá la síntesis de las proteínas de la cápside y algunas enzimas.



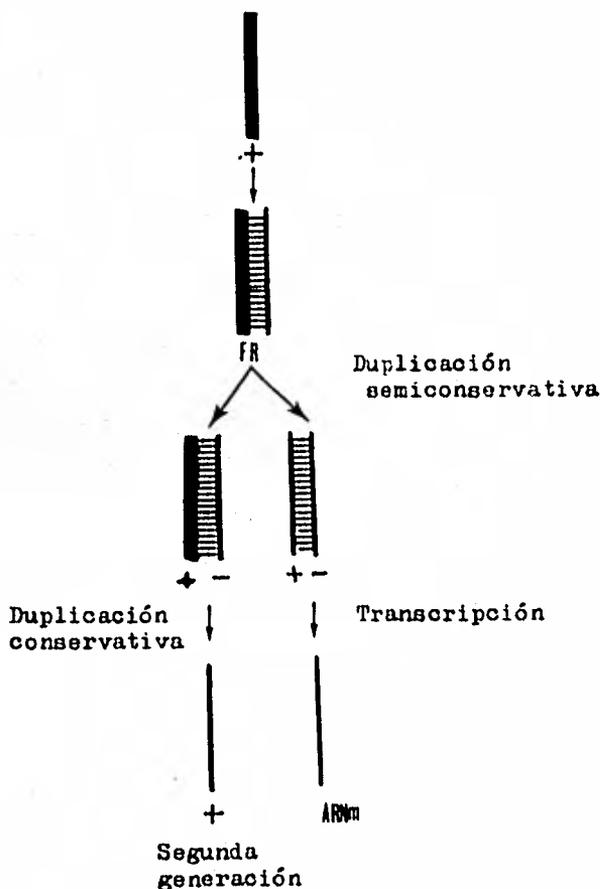
El ácido nucleico inicial se representa por líneas gruesas; el ácido nucleico de nueva síntesis se representa con líneas verticales delgadas. Las líneas horizontales corresponden a puentes de hidrógeno dentro del ácido nucleico bicatenario.

Una característica de muchos de los virus de éste grupo, es la división de los procesos de la transcripción en al menos dos fases: Temprana y Tardía. La transcripción temprana se lleva a cabo antes de la síntesis del ADN del virus y muchos de los tipos de ARN que se producen, están codificados por enzimas relacionadas con la síntesis de ácido nucleico perteneciente al virus. La transcripción tardía depende de la anterior, y en algunos casos, de la síntesis progresiva del ADN vírico, los ARNm que se producen están codificados fundamentalmente para la síntesis de proteínas estructurales del virus.

Algunos ejemplos de virus animales que quedan incluidos en éste grupo son los papovavirus, adenovirus y herpesvirus. Los papovavirus y adenovirus muestran esquemas claros tanto en la transcripción temprana como tardía, no así los herpesvirus en los que no se puede hacer una distinción entre las dos fases de transcripción.

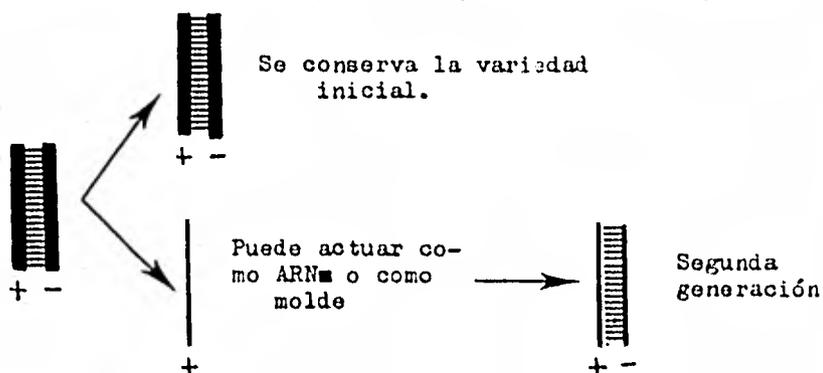
Los poxvirus son los únicos entre los virus de éste grupo que poseen una transcriptasa vírica y su ciclo de crecimiento tiene lugar enteramente en el citoplasma de la célula huésped.

VIRUS DE LA CLASE II. (Con ADN de cadena sencilla). En estos virus, el ADN inicial sirve de molde para la formación de una cadena complementaria dando lugar a un intermediario bicatenario llamado Forma Replicativa (FR). Mediante duplicación semiconservativa de la FR se producen nuevas moléculas de ADN bicatenario, las cuales no contienen al ADN parental. Su función consiste en servir de molde para la transcripción del ADN, dando lugar a un ARNm que se traduce en proteínas específicas del virus. Se produce ácido nucleico monocatenario en la segunda generación, mediante duplicación conservativa, utilizando como molde la cadena complementaria del intermediario de ADN.

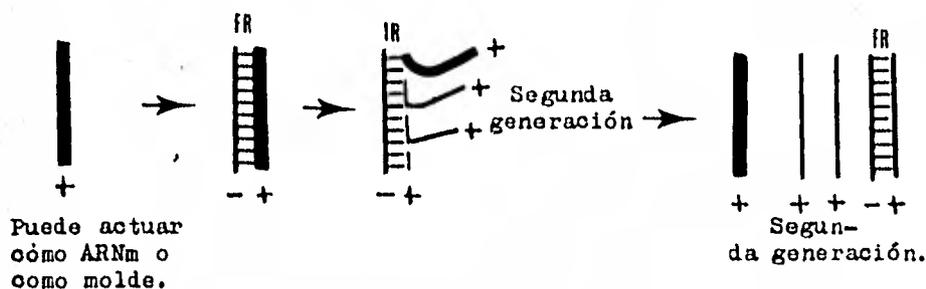


VIRUS DE LA CLASE III. (ARN bicatenario). Para la replicación de los virus de ARN bicatenario se requiere la síntesis de ARNm y del ácido nucleico bicatenario viral. Solo se transcribe una cadena del genoma inicial y parte de las cadenas de ARN recién sintetizadas funcionan como ARNm; las demás representan un molde para la síntesis de una cadena complementaria, lo que tiene como resultado la producción de nuevos genomas virales bicatenarios.

Dentro de este grupo, los más conocidos son los reovirus y algunos virus de insectos y plantas. Todos ellos tienen ácido nucleico segmentado, una transcriptasa asociada al virión y se multiplican en el citoplasma de la célula.



VIRUS DE LA CLASE IV. El ARN inicial monocatenario, desempeña funciones tanto de ARNm, como de molde para la síntesis de una cadena complementaria - la cual a su vez, es copiada para producir el ARN de la progenie. En el proceso se ha identificado también una forma llamada Intermediario Replicativo (IR). En este grupo de virus, la polimerasa dependiente de ARN, se sintetiza antes de la replicación del ARN viral. Los típicos representantes de este grupo son los poliovirus y togavirus.

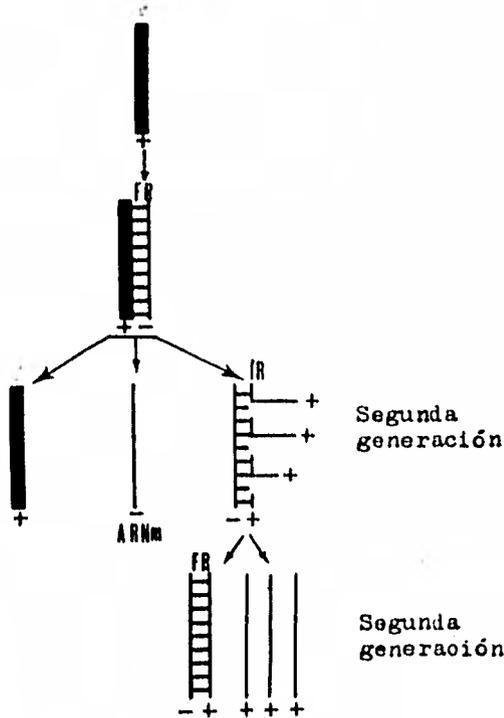


VIRUS DE LA CLASE V. Los virus que se encuentran en esta clase, difieren de los virus de la clase IV por el hecho de que su ARN no puede actuar como ARNm pero posee información complementaria para formar un ARNm.

En diversos representantes de los grupos paramixovirus, rhabdovirus y ortomixovirus, se encontraron ARN polimerasas dependientes de ARN y ligadas con el virión, que catalizan la producción de ARNm. El único criterio para agrupar éstos virus en una sola clase, es que el ARNm resulta complementario del ARN del virión, ya que presentan notables diferencias en cuanto a composición del virus y duplicación del genoma.

Un modelo para la replicación del ARN de los virus de la influenza (un ortomixovirus), postula que hay síntesis de ARN de cadena complementaria, que desplaza al ARN viral. Después ésta cadena complementaria sirve de molde para la producción del genoma de la descendencia. Cuando se extrae ARN de las células infectadas por virus de la influenza, se encuentran moléculas análogas al IR y al FR propias de las células infectadas con poliovirus, de modo que el mecanismo fundamental de replicación del genoma es probablemente semejante al de los virus de la clase IV.

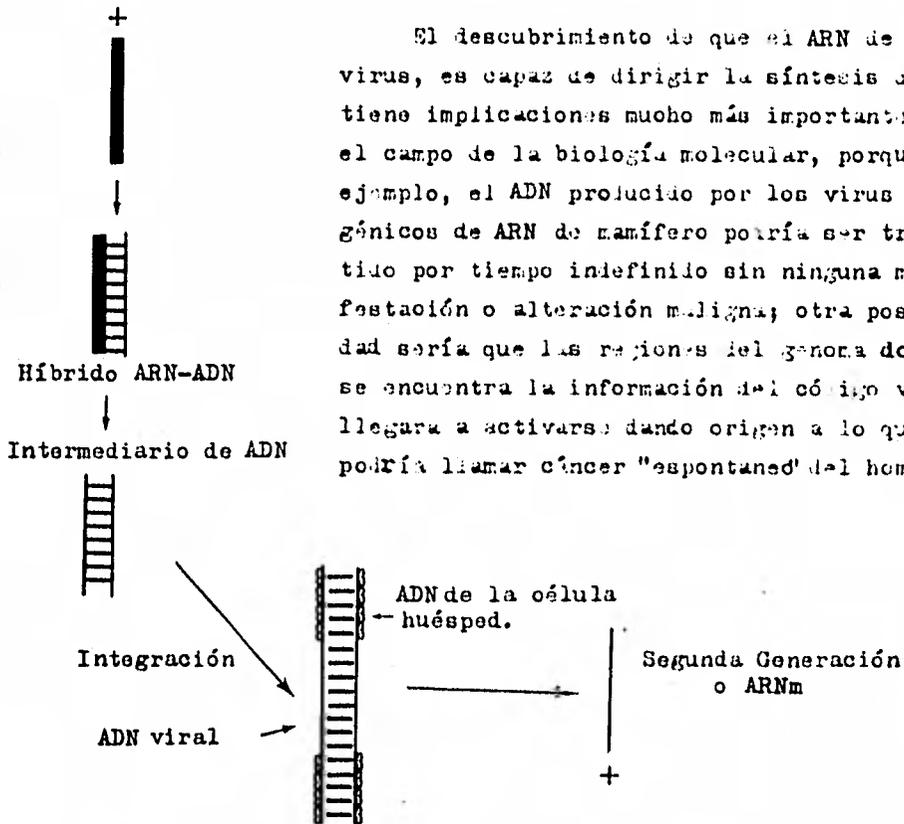
En resumen, el ciclo de duplicación de estos virus, comprende la síntesis del ARN complementario del genoma del virus, el cual puede funcionar como o bien, servir de molde para la producción del genoma viral.



VIRUS DE LA CLASE VI. Los virus de ARN monocatenario que integran este grupo tienen algunas características notables:

Durante la replicación, se forma un compuesto intermedio, híbrido de ARN-ADN, que sirve como molde para la producción de ADN bicatenario; el intermedio de ADN queda integrado al genoma de la célula huésped; muchos de éstos virus pueden ocasionar la transformación de células, tanto "in vivo" como "in vitro", por ejemplo los virus que producen el Sarcoma de Rous y los retrovirus.

El ácido nucleico es una molécula de ARN monocatenario. La replicación exige la presencia de una ADN polimerasa dependiente de ADN (transcriptasa inversa), que interviene en la síntesis del compuesto híbrido ARN-ADN, así como de la ADN polimerasa dependiente de ADN, que resulta necesaria para la síntesis de ADN bicatenario.



MADURACION Y LIBERACION. La maduración de los virus sin envoltura, encapsulados y complejos, presenta características diferentes, por lo tanto, conviene considerar por separado estos diferentes grupos de virus:

Virus sin envoltura (desnudos). El proceso de maduración consta de dos fases principales: el acoplamiento de la cápside y su unión a un ácido nucleico.

En los virus de ADN, estas dos fases son totalmente independientes; los polipéptidos a partir de los cuales se habrán de formar las proteínas del virus, se sintetizan sobre los polirribosomas citoplásmicos, y pasan rápidamente al núcleo, donde quedan incorporados a la cápside y a los componentes internos del virus. Para el ensamblaje de las proteínas estructurales y del ADN, hasta dar un virus infectante, se requiere la producción de uno o varios factores de maduración ricos en arginina. Los viriones se acumulan en el núcleo, y permanecen unidos a la célula hasta que se liberan progresivamente por la muerte y autólisis de las células infectadas. Un ejemplo son los adenovirus.

En cambio, en los virus de ARN, estas dos fases se producen en forma relativamente simultánea, cada parte se sintetiza en formaciones citoplásmicas limitadas por membranas llamadas "cuerpos de síntesis del virus" (CSV), los capsómeros se forman por autoensamblaje a partir de monómeros de proteínas precursoras. Conforme va sintetizándose el ARN viral, queda encerrado rápidamente dentro de las cápsides que se forman al irse acoplando los capsómeros. Cuando se destruye la célula, hay liberación simultánea y rápida de gran cantidad de virus infectante. Los poliovirus se ensamblan de este modo.

Virus encapsulados. Durante la maduración de los virus encapsulados, es necesaria la formación de una cápside alrededor del ácido nucleico, formándose así una nucleocápside que es rodeada por la cubierta del virus.

Los virus con ARN se ensamblan con su ácido nucleico y proteínas dentro del citoplasma. En los virus con ADN, las proteínas migran al núcleo y ahí tiene lugar el ensamblaje de las nucleocápsides.

Mediante un fenómeno de geración o extrusión, los virus se rodean de una envoltura formada por la membrana nuclear; en el caso de los virus con ADN estos migran a través de los tubulos intracelulares, logrando así salir de la célula.

En los virus con ARN, la maduración se efectúa cuando las nucleocápsides se encierran en una porción de membrana celular modificada, a la que han quedado incorporadas algunas proteínas virales formadas durante la infección; la liberación también se lleva a cabo por geración. Un ejemplo de virus encapsulados con ADN son los herpesvirus, y con ARN, los virus de la influenza.

Virus complejos. En los poxvirus, que son un ejemplo de virus complejos, tanto el ácido nucleico viral como los componentes proteínicos, se sintetizan en el citoplasma y se presentan como granulos y fibrillas densos, en sitios que son llamados viroplasmas. Durante el fenómeno de maduración, los filamentos dispuestos al azar se rodean de una membrana sintetizada "de novo", formada de varias capas y dando lugar a la formación de "partículas esféricas inmaduras". Estas membranas van sufriendo diferenciación interna, formando la membrana interna y el eje central donde se encuentra el ácido nucleico. La membrana externa del virus adquiere su aspecto maduro característico. Al acumularse en el citoplasma, se pueden liberar a través de microvellosidades de la superficie celular, o pasar directamente de una célula a otra por puentes intercitoplásmicos.

GENÉTICA VIRAL

Gracias a los estudios genéticos realizados en bacteriófagos, se han podido establecer los fundamentos básicos, que han permitido el conocimiento de la genética de los virus animales. La Genética de los virus animales ha podido desarrollarse gracias a avances técnicos fundamentales, siendo uno de ellos la aplicación de los ensayos en placa que resultan muy sensibles para la cuantificación de virus infectantes, y otro, la identificación y selección de marcadores genéticos estables, fáciles de reconocer y producidos por mutaciones simples.

Los dos principales mecanismos por los cuales ocurren modificaciones genéticas en los virus, son la Mutación y la Recombinación.

MUTACION. Las mutaciones se definen como "cambios hereditarios del genoma que no se deben a la incorporación de material genético de otro organismo". A nivel molecular, una mutación es una modificación química de la serie de bases del ácido nucleico correspondiente al genoma. Las mutaciones pueden proceder de cambios que afecten un solo nucleótido (Mutación Puntiforme), o de alteraciones mayores, por ejemplo deleciones o inversiones, susceptibles de afectar cientos o miles de nucleótidos. En los virus animales, la frecuencia de mutaciones espontáneas es aproximadamente la misma que en otros organismos siendo ésta entre 10^{-5} y 10^{-8} mutaciones por gen cada vez que se duplica una molécula de ácido nucleico.

Una causa frecuente de mutaciones puntiformes es un apareamiento de bases incorrecto durante la duplicación o la reparación de un ácido nucleico. Las mutaciones pueden ser inducidas por acción de diversos agentes físicos ó químicos que son llamados mutágenos, entre los cuales se encuentran el ácido nitroso, la bromodesoxiuridina, la hidroxilamina, nitrosoguanidina, luz UV, etc. Los mutágenos inducen mutaciones por alteración directa de una base, en forma de que ocurra un apareamiento defectuoso, o provocando indirectamente la reparación de un ácido nucleico que fué dañado. Solo es posible reconocer las mutaciones si tienen como consecuencia alteraciones identificables del fenotipo, de modo que aquellos cambios del ácido nucleico que no producen ningún efecto fenotípico reciben el nombre de "mutaciones silenciosas".

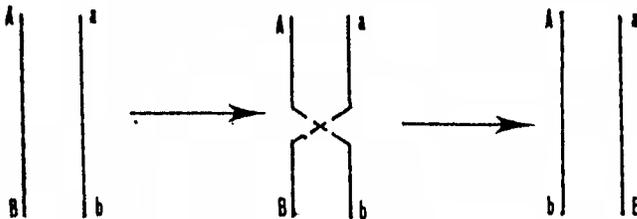
Las mutaciones adquieren importancia médica cuando la expresión de éste cambio, le dá al virus una ventaja que se refleja en una mayor virulencia. También son importantes las mutaciones que pueden disminuir la virulencia, ésto se conoce como "atenuación". Los virus atenuados, o sea que conservan las de

terminantes antigénicas capaces de inducir la síntesis de anticuerpos protectores, son esenciales en la elaboración de vacunas.

Las mutaciones que pudieron identificarse en los virus animales afectan una amplia gama de las propiedades de los virus, incluyendo la formación de placas y pústulas, la composición antigénica, actividades enzimáticas y la virulencia. Otra variedad de mutantes, distinta de las antes descritas, son las Mutaciones Letales Condicionales que, como su nombre lo indica, son letales bajo ciertas condiciones y viables bajo otras. Su particular importancia es que ocurren prácticamente en todos los genes víricos, pudiendo afectar así, funciones esenciales en la replicación viral. Por ejemplo, se conocen virus animales, mutantes letales condicionales sensibles a la temperatura (st), esto quiere decir que pueden crecer más o menos normalmente en un solo rango de temperatura, y generalmente estos virus se replican a temperaturas más bajas de las normales y a las que se les llama "temperaturas permisivas".

Los mutantes st son mutaciones puntuales en las que una base de un codón, se altera y es sustituida por otra, teniendo como resultado el cambio de un aminoácido por otro, en el polipéptido resultante; hay evidencias de que este polipéptido es más sensible a la temperatura que el polipéptido original.

RECOMBINACION. Se llama recombinación al intercambio de material genético entre dos virus que infectan una misma célula. El resultado de la recombinación es una descendencia genéticamente estable (recombinante), que posee características que no existen en ninguna de las dos cepas iniciales. El mecanismo de recombinación entre virus cuyos genomas no están segmentados, supone una ruptura con nueva unión (entrecruzamiento) de las moléculas de ácido nucleico de los dos virus.



Recombinación entre virus.

En el caso de los virus con genomas segmentados, la recombinación puede tener como resultado, la formación de una cápside, alrededor de segmentos de ácido nucleico de 2a. generación producidos por predecesores diferentes.

Puede haber recombinación cuando ambos virus son "activos" (infectantes), cuando un virus es activo y el otro no, ó bien cuando los dos son inactivos. Los virus que intervienen en la recombinación pueden ser mutantes de un mismo virus, de diferentes cepas de un mismo virus, ó de virus diferentes. También puede ocurrir una variedad especial de recombinación entre el ácido nucleico del virus y el genoma de la célula huésped.

Recombinación entre dos virus activos. Dos mutantes de un mismo virus pueden volver a recombinarse para producir una descendencia, igual a los virus que les dieron origen, por ejemplo, dos mutantes del virus de la poliomielitis tipo 1 pueden recombinarse durante la replicación, y su descendencia será de virus que pueden replicarse a la temperatura a la que lo harían los virus no mutados.

Recombinación entre virus inactivos. Se presentan dos fenómenos:

Reactivación por multiplicidad. Se llama así al hecho de que el entrecruzamiento de dos virus inactivos produzcan un virus infectante o "reactivado". El virus "reactivado" resulta de la recombinación entre los ácidos nucleicos dañados de los virus que han sufrido mutaciones letales en distintos genes - (por ejemplo después de exposición a rayos UV) y se explica en función de que las lesiones son en distintos genes al azar, por lo que la producción de entrecruzamientos múltiples, que conecten segmentos intactos de moléculas distintas puede producir una molécula no lesionada.

Puesto que la administración de vacunas obtenidas por irradiación UV de virus activos, podría tener como resultado, la producción de virus infectantes a través del fenómeno de reactivación por multiplicidad, no se recomienda el empleo de este método de inactivación en la producción de vacunas.

Reactivación cruzada. Esta es una consecuencia de una recombinación genética entre un virus activo y otro inactivo, en la que se dá lugar a una descendencia activa, que posee uno o varios de los rasgos genéticos del virus inactivo.

Además de las interacciones que suponen recombinación genética, existen interacciones entre productos genéticos inducidos por efectos del virus, que se producen en las células infectadas por más de un virus, y entre las que se encuentran las siguientes:

Mezcla de fenotipos. Consiste en atrapar el genoma de un virus, en una cápside o envoltura que posea componentes producidos por otro virus. Esta alteración es un cambio inestable, puesto que en infecciones posteriores, la descendencia del virus con fenotipo mixto, presentará cápsides con el genoma inicial.

La mezcla de fenotipos puede ocurrir de dos maneras: por transcapsidación o por envoltura en "mosaico".

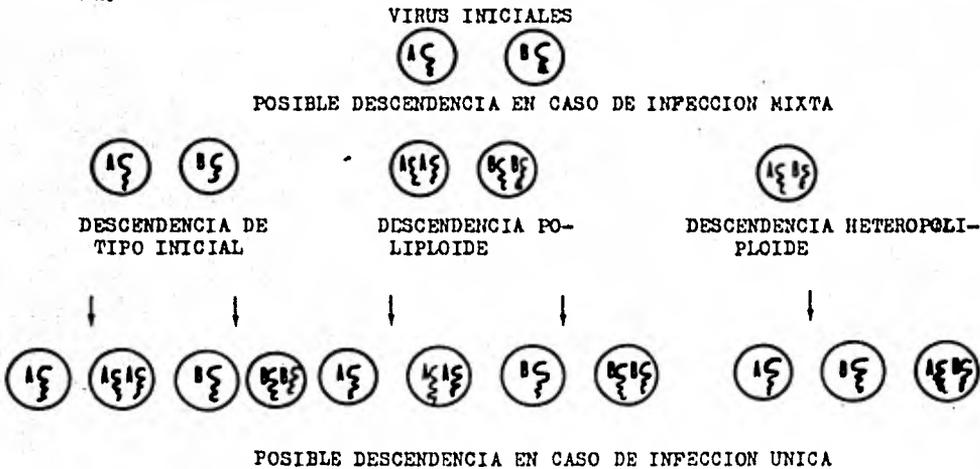
Ocurre transcapsidación cuando dos virus que se replican en la misma célula intercambian sus cápsidas enteras, por ejemplo, esto ocurre en infecciones con enterovirus, en los que la descendencia viral liberada por células infectadas con una mezcla de enterovirus (ECHO y coxsackie) tendrá el genoma de un virus dentro de la cápside de otro.

En el caso de envolturas en mosaico, el cambio fenotípico, consiste en que las envolturas de la descendencia viral contienen determinantes antigénicos de los dos virus iniciales.

En la naturaleza, la mezcla fenotípica de cápsidas y envolturas, podría tener grandes consecuencias, pues modificaría el espectro de huéspedes de un virus dado, además de complicar el diagnóstico de ciertas enfermedades.

Mezcla de genotipos y poliploidismo. Estos fenómenos se observan cuando queda incluido en un mismo virus más de un genoma completo, pero sin que haya recombinación de dichos genomas, produciendo descendencia de ambos tipos.

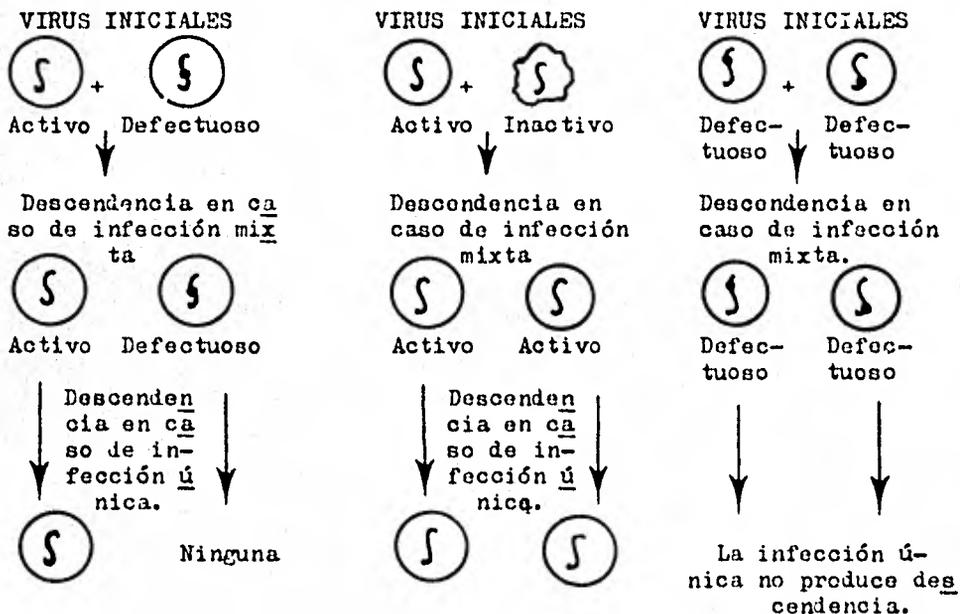
En las células infectadas por variedades genéticamente diferentes de un mismo virus pueden producirse partículas heteropoliploides a consecuencia de la inclusión accidental de dos nucleocápsidas distintas en una misma envoltura.



Complementación. Este término designa la interacción de dos virus cuyo resultado es la producción de una descendencia infectante de uno de los dos tipos o de ambos en condiciones en las que no tendría lugar una replicación normal. La complementación puede ser entre virus activos y defectuosos, entre virus activos e inactivos, o bien entre dos virus defectuosos o mutantes letales condicionales en los que los ácidos nucleicos no se intercambian de modo que los fenotipos no se modifican.

En todos los casos de complementación, uno de los virus induce la síntesis de algún producto que el otro virus no es capaz de elaborar.

Es posible estudiar la organización del genoma viral haciendo uso de las pruebas de complementación entre mutantes que pueden poseer fenotipos similares. La complementación entre mutantes resultó útil en el establecimiento de mapas genéticos y los resultados de las investigaciones acerca del mecanismo de complementación han permitido comprender algunos de los posibles mecanismos de transformación celular y de oncogénesis viral.



INTERACCION VIRUS-ORGANISMO COMPLETO.

PATOGENESIS DE LAS INFECCIONES VIRALES. En el estudio de las interacciones virus-huésped resulta de mayor interés para el hombre, el conocer los efectos de la infección vírica, que dan lugar, en algunas ocasiones a graves cuadros clínicos. Es por ésto que resulta importante analizar detenidamente, la patogénesis de dichas infecciones, lo cual se refiere al proceso que sigue a la entrada de un virus en el interior de una célula huésped, y también porque del conocimiento de dichos efectos dependerá el éxito que se tenga en la aplicación de tratamientos adecuados a la práctica médica contra las enfermedades e infecciones virales.

El conjunto de alteraciones que marcan los cuadros característicos de cada enfermedad, y que van desde cambios bioquímicos, inmunológicos, fisiológicos y citológicos producidos por el virus, se deben a distintos factores, entre los que se encuentran: la vía de entrada del virus, sensibilidad de las células, velocidad de multiplicación y diseminación del virus, ya que mientras mas rápidamente se replique el virus, mas temprano aparecerán los síntomas de la enfermedad, aquí cabe señalar que por lo general, las cepas virulentas se replican mas rápido que las avirulentas; otro factor son los efectos de productos tóxicos debidos a la interacción virus-célula y también las defensas del huésped tanto inmunológicas como inespecíficas, ya que de éstas depende el resultado final de la interacción virus-huésped, ya sea porque se manifieste la enfermedad o bien porque ésta sea controlada por el organismo.

La enfermedad se manifiesta una vez que el virus infecta y alcanza un determinado umbral de replicación en un huésped sensible, se disemina y localiza en los órganos "blanco". Podemos distinguir así distintos tipos de infecciones:

Las infecciones ocultas, subclínicas o inaparentes, que son aquellas que no se acompañan de signos clínicos y si bien resultan menos espectaculares, son muy frecuentes y poseen un valor epidemiológico muy importante porque representan una fuente de diseminación del virus y pueden conferir inmunidad, así por ejemplo, tenemos que por cada caso de poliomielitis manifiesta hay de 100 a 200 casos de infecciones inaparentes, que se detectan serológicamente o por aislamiento del virus. Una variedad de infección oculta es la infección latente en la que no es posible identificar la producción del virus infectante, y parece existir un equilibrio entre el virus y el huésped, pero si este equilibrio se altera, el virus se multiplica y se manifiesta de inmediato el cua-

otro clínico; ejemplos clásicos de éste tipo de infección en el hombre son el virus tipo 1 del herpes simple y el virus del herpes zóster. En ambos agentes existe un periodo de latencia, en los que se han infectado los ganglios raquídeos; en el caso del herpes simple es el ganglio del trigémino, en condiciones de tensión física, fisiológica o ambiental el estado de latencia se transforma en infecciones clínicas recurrentes (fuegos). En el caso de individuos que cursaron la varicela durante la infancia, la reactivación del virus ocasiona una enfermedad distinta que se conoce como "zona" (herpes zóster).

En la infección manifiesta, por el contrario, existen signos clínicos - claros de la enfermedad y se pueden clasificar según su periodo de evolución en : infecciones agudas y crónicas. Una infección aguda suele durar relativamente poco, algunos días o semanas, y en general termina con la desaparición del virus de los tejidos y órganos del huésped, en cambio las infecciones crónicas se caracterizan por una evolución lenta que puede durar meses o años - como la hepatitis infecciosa.

Por otro lado, las infecciones virales se pueden clasificar en localizadas o diseminadas. En las primeras, la multiplicación vírica y la lesión celular permanecen localizadas en la zona de entrada formando una lesión única o un grupo de lesiones como sucede con las verrugas. Algunas veces el virus puede extenderse a zonas distantes, pero esta diseminación no es esencial para la producción de la enfermedad característica. Las infecciones diseminadas son aquellas que afectan gran número de órganos en su desarrollo; primero el virus sufre una multiplicación primaria en la zona de entrada y en los ganglios linfáticos adyacentes, luego se diseminan a través de la corriente sanguínea y los vasos linfáticos (viremia primaria) a algunos órganos donde se efectúa una multiplicación posterior. Después el virus se disemina por medio de una viremia secundaria a los órganos finales donde se vuelve a multiplicar causando las lesiones celulares patológicas y la enfermedad clínica (Smith , 1978).

PUERTA DE ENTRADA, DISEMINACION, EXCRECION Y TRANSMISION DE LOS VIRUS.

El proceso de la patogénesis se compone de cuatro fases distintas pero muy íntimamente relacionadas. En la primera fase el virus penetra al interior de la célula huésped, en la segunda se disemina por todo su cuerpo, en la tercera se localiza y prolifera en uno o más órganos blanco y finalmente se excreta quedando liberado del organismo.

Para que se produzca la enfermedad, lo primero que se necesita es tener

una puerta de entrada que facilite el acceso del virus a las células. Los virus pueden invadir al huésped por diversas vías, ya sea por mucosas, piel, órganos genitales, vía sanguínea ó placenta; dependiendo de varios factores, como la procedencia del virus (contacto directo, agua, fomites o insectos), edad, estado fisiológico e inmunológico del huésped y la capacidad para sobrevivir a las barreras inespecíficas de defensa del huésped (temperatura, pH, humedad).

Otra característica de las infecciones por virus es que éstos presentan muchas variaciones en relación con los órganos sobre los cuales ejercen su acción.

Cada virus tiene una afinidad selectiva por uno o mas órganos blanco, y ésta propiedad es el denominado Tropicismo. Así los virus pueden clasificarse en: Dermótrofos, Neurótrofos, Enterótrofos, etc. El tropismo es una propiedad del virus determinada genéticamente, pero el mecanismo exacto por el cual se seleccionan los órganos está poco comprendido.

Respecto a las vías de entrada, las mucosas del tracto respiratorio y tubo digestivo, son las principales para los virus que infectan al hombre. En el primer caso, el modo de transmisión se debe a aerosoles o gotitas que son expulsadas al hablar, toser o estornudar, procedentes de la nasofaringe de personas infectadas; y a través de fomites o alimentos contaminados, si la entrada es por la mucosa del tubo digestivo.

Las vías respiratorias, son una importante vía de acceso para muchos virus tales como rinovirus, adenovirus, ortomixovirus, paramixovirus y coronavirus. Un buen ejemplo en el caso de los virus respiratorios es la patogenia de las infecciones por el virus de la influenza tipo A, el cual penetra al organismo en forma de agregados húmedos o gotitas y se fija al receptor N-acetilneuramínico de las células epiteliales y después de replicarse pasa de una célula a otra mediante las capas líquidas intercelulares.

Algunos otros virus como el de las paperas, penetran por vías respiratorias, producen una infección primaria de las células epiteliales pero luego se diseminan a los órganos blanco por la vía linfática o sanguínea.

Por otro lado, el principal grupo de virus que infectan al hombre por el tubo digestivo son los enterovirus. Además en vista de que los virus provistos de envoltura, son inactivados por el medio ácido del estómago, sales biliares, etc, los únicos virus que infectan con éxito el tubo digestivo son aquellos que carecen de envoltura, tales como los poliovirus, adenovirus, reovirus y virus de la hepatitis.

La poliomielitis presenta un esquema claro de enfermedad viral adquirida por la vía oral, así, el virus invade al organismo desde el tubo digestivo y se multiplica en la mucosa de la orofaringe, placas de Peyar o los ganglios linfáticos correspondientes, se disemina a través de la sangre y empieza a aparecer en las heces; después de la viremia, dependiendo de la diseminación y replicación de los virus, estos pueden atacar el sistema nervioso central, destruyendo las motoneuronas, lo cual produce el cuadro típico de parálisis.

Las conjuntivas también pueden ser puerta de entrada de muchos virus, que causan infecciones de las vías respiratorias superiores, como en el caso de los rinovirus, en los que la fuente de contagio puede ser una secreción nasofaríngea, o en los adenovirus, cuyo medio de infección puede ser el agua de las albercas o el polvo.

La piel sana es una buena barrera contra las infecciones virales y cuando el virus entra a través de ella puede hacerlo a consecuencia de abrasiones, picadura de artrópodo infectado (como los togavirus, algunos de los cuales pueden producir fiebre amarilla, dengue, enfermedades hemorrágicas y fiebres no diferenciadas), mordeduras de animales (como el virus de la rabia) ó por medios quirúrgicos (como en el caso de la Hepatitis B que se adquiere por transfusión).

Sin embargo la mayor parte de las enfermedades que afectan la piel, como el sarampión, viruela y varicela, son producidas por virus que penetran por las vías respiratorias y se diseminan por macrófagos y linfocitos. Respecto a la excreción y transmisión, los virus se transmiten por fomites o material procedente de las lesiones, a excepción del virus del sarampión que se excreta y transmite por secreciones de nariz, garganta o conjuntivas.

Respecto a la transmisión por medio de los órganos genitales, podemos mencionar por ejemplo, dos virus que infectan al hombre, a través del contacto sexual: el virus del condiloma acuminado, que produce verrugas genitales, y el virus tipo II del herpes simple, cuya importancia radica en que, en el caso de una madre infectada, el lactante pueda adquirirlo en el momento de nacer, en su paso a través del conducto vaginal, y producirle una infección grave y a veces mortal.

La entrada a través de la placenta constituye una vía muy especial de infección, y ejemplos de virus que se adquieren por esta vía son el virus de la rubeola, el cual ejerce sus efectos teratógenos sobre el cristalino, corazón, y cerebro del feto provocando graves malformaciones, y los citomegalovirus, en cuyo caso se produce la muerte in utero o el nacimiento de un niño con trastornos neurológicos permanentes.

Por otro lado, al estudiar los mecanismos de la patogenia de las enfermedades virales, es preciso tener en cuenta, tanto aquellos fenómenos ligados con el virus, como las respuestas del huésped frente al complejo virus-célula.

Respecto a la patogenia ligada al virus, las interacciones de éste con el huésped pueden ocasionar dos variedades de daño: lesión o destrucción de las células (efecto citopático), o transformación neoplásica.

La lesión o destrucción de las células puede obedecer a varios mecanismos: a un efecto tóxico general producido por los viriones o por sustancias tóxicas que liberen las células infectadas, síntesis de una o varias proteínas cuyo código corresponda al virus y que bloquean la biosíntesis celular, también el daño puede ser por la inducción de aberraciones cromosómicas en las células huésped, lo cual les impide la mitosis, o bien, deberse a la producción de cuerpos de inclusión que pueden alterar la estructura y función de las células hasta su muerte.

La transformación neoplásica que se produce por la interacción entre virus oncógenos y las células huésped, se traduce en alteraciones de la membrana plasmática, cambios de morfología de las células, aparición de antígenos tumorales y aceleración del desarrollo in vivo, creyéndose que todo esto se debe a la integración y expresión del genoma viral, por ejemplo en los leucovirus.

PATOGENIA LIGADA AL HUESPED

REACCIONES INFLAMATORIAS. Durante una enfermedad viral se alteran las células infectadas, lo cual ocasiona una respuesta inflamatoria que suele acompañarse de liberación del virus o difusión de algunos productos secundarios (metabolitos ácidos) por las células lesionadas. La naturaleza de la respuesta inflamatoria puede dar una característica clínica especial a las lesiones que producen determinados virus por ejemplo, lesiones localizadas en el caso del herpes simple o lesiones maculopapulares en el caso del sarampión.

Por otro lado, a diferencia de las enfermedades bacterianas agudas, las células causantes de la inflamación en las infecciones virales son monocleadas (macrófagos y linfocitos) y la fase aguda suele acompañarse de leucopenia ($3000 \text{ leucocitos/mm}^3$) y no de leucocitosis (H. Smith 1972).

INMUNOPATOLOGIA. En algunas enfermedades virales, los mecanismos inmunitarios del huésped suelen ser la base de la patogenia, por lo que resulta conveniente revisar algunos conceptos sobre los mecanismos de defensa (específicos e inespecíficos) del huésped frente a las infecciones víricas, antes de hablar propiamente de la patología debida al sistema inmune humoral y celular.

MECANISMOS DE RESISTENCIA. La resistencia del huésped en las infecciones virales es un fenómeno complejo, en el cual participan todos los mecanismos inespecíficos de resistencia, que se manifiestan cuando ocurre el primer contacto con el virus, así como los mecanismos específicos que participan durante la infección y en caso de exposiciones posteriores al mismo virus.

MECANISMOS INESPECÍFICOS.

Inmunidad natural. La inmunidad natural se define como aquella que obedece a la constitución de la especie e interviene en una infección primaria antes de que se desarrolle la inmunidad específica adquirida. Algunos factores del huésped que forman parte de la inmunidad natural son :

a).- Barreras anatómicas y químicas. La piel y las mucosas normales del huésped son las primeras líneas de defensa contra la infección viral. Además de estas barreras pasivas intervienen otros factores como el sudor, que contiene ácido láctico, secreciones sebáceas (ac. grasos), lisozima y el epitelio ciliar.

b).- Edad y estado fisiológico. Estos son otros factores importantes de la resistencia a los virus. Muchas infecciones víricas resultan más graves en recién nacidos, lactantes y ancianos, que en adultos jóvenes, puesto que por ejemplo en los primeros casos, los mecanismos de defensa no están perfectamente desarrollados y la resistencia depende solo del conjunto de anticuerpos que reciben de la madre a través de la placenta (tipo IgG). En los ancianos, a partir de los 70 años, se vuelve deficiente tanto la respuesta inmune debida a células como la inmunidad humoral.

La desnutrición también puede reducir la eficacia de la inmunidad tanto específica como inespecífica, por ejemplo resultan deprimidas las reacciones de hipersensibilidad tardía e incluso por deficiencias vitamínicas se alteran las barreras mecánicas de piel y mucosas.

Los cambios hormonales pueden alterar también la patogenia y gravedad de ciertas enfermedades virales, por ejemplo los casos de mujeres embarazadas y pacientes en tratamiento con corticosteroides.

c).- Constitución genética. Este factor innato es de importancia fundamental - para establecer la resistencia contra ciertos virus, por ejemplo, algunos grupos raciales difieren marcadamente en cuanto a sensibilidad a enfermedades como fiebre amarilla y sarampión.

d).- Resistencia debida a células. Existen además, dentro de los mecanismos inespecíficos, factores de resistencia celular como son la necesidad de sitios receptores en las células, a las que puedan adsorberse los virus, y la presencia de células refractarias, en las cuales el virus no encuentra dentro de ellas, toda la maquinaria necesaria para poder replicarse.

La sensibilidad de los macrófagos dentro de los mecanismos de resistencia debida a células, tiene una importancia especial, es de origen genético y parece que ciertas enfermedades, estudiadas en ratones, como la encefalitis y hepatitis depende de la capacidad que dichas células tengan para permitir la replicación viral y de esta manera servir como vehiculos de diseminación en el organismo. Así mismo, los macrófagos suprimen de la circulación a los virus, fagocitandolos pero al parecer la fagocitosis posee menos importancia defensiva en las infecciones virales que en las bacterianas; de hecho ciertos virus parecen tener la capacidad de inactivar a los leucocitos polimorfonucleares, como el virus del sarampión que los infecta produciendoles alteraciones cromosómicas.

Respecto a la inflamación, esta suele ser benéfica para el huésped, ya que limita la diseminación del virus, puede diluir los factores tóxicos y dar lugar a sustancias antivirales, que junto con el aumento de temperatura, descenso del pH, y los potenciales de oxidación-reducción en los tejidos, representan condiciones desfavorables para la replicación de la mayoría de los virus. En cambio cuando la respuesta inflamatoria es demasiado intensa, puede formar parte de la patogenia de la enfermedad, como mencionamos anteriormente.

INTERFERON. El último de los mecanismos de defensa inespecífico es el "sistema del Interferón", que fué descubierto por Isaacs y Lindemann en 1957 y quienes demostraron que la membrana alantoidea de embriones de pollo expuestos a virus de la influenza inactivado, producía una sustancia soluble, distinta de los anticuerpos, que volvía a las membranas resistentes a los ataques virales posteriores; más tarde se demostró que todos los virus son capaces de inducir la producción de interferón, así como algunas rickettsias, endotoxinas y ciertos polímeros sintéticos (polisulfatos y polifosfatos).

El interferón es un grupo de proteínas que tienen numerosas actividades biológicas y cuyo código corresponde a la célula huésped y no al genoma vírico, con

c).- Constitución genética. Este factor innato es de importancia fundamental - para establecer la resistencia contra ciertos virus, por ejemplo, algunos grupos raciales difieren marcadamente en cuanto a sensibilidad a enfermedades como fiebre amarilla y sarampión.

d).- Resistencia debida a células. Existen además, dentro de los mecanismos inespecíficos, factores de resistencia celular como son la necesidad de sitios receptores en las células, a las que puedan adsorberse los virus, y la presencia de células refractarias, en las cuales el virus no encuentra dentro de ellas, toda la maquinaria necesaria para poder replicarse.

La sensibilidad de los macrófagos dentro de los mecanismos de resistencia debida a células, tiene una importancia especial, es de origen genético y parece que ciertas enfermedades, estudiadas en ratones, como la encefalitis y hepatitis depende de la capacidad que dichas células tengan para permitir la replicación viral y de esta manera servir como vehiculos de diseminación en el organismo. Así mismo, los macrófagos suprimen de la circulación a los virus, fagocitandolos pero al parecer la fagocitosis posee menos importancia defensiva en las infecciones virales que en las bacterianas; de hecho ciertos virus parecen tener la capacidad de inactivar a los leucocitos polimorfonucleares, como el virus del sarampión que los infecta produciendoles alteraciones cromosómicas.

Respecto a la inflamación, esta suele ser benéfica para el huésped, ya que limita la diseminación del virus, puede diluir los factores tóxicos y dar lugar a sustancias antivirales, que junto con el aumento de temperatura, descenso del pH, y los potenciales de oxido-reducción en los tejidos, representan condiciones desfavorables para la replicación de la mayoría de los virus. En cambio cuando la respuesta inflamatoria es demasiado intensa, puede formar parte de la patogenia de la enfermedad, como mencionamos anteriormente.

INTERFERON. El último de los mecanismos de defensa inespecífico es el "sistema del Interferón", que fué descubierto por Isaacs y Lindemann en 1957 y quienes demostraron que la membrana alantoidea de embriones de pollo expuestos a virus de la influenza inactivado, producía una sustancia soluble, distinta de los anticuerpos, que volvía a las membranas resistentes a los ataques virales posteriores; más tarde se demostró que todos los virus son capaces de inducir la producción de interferón, así como algunas rickettsias, endotoxinas y ciertos polímeros sintéticos (polisulfatos y politiofosfatos).

El interferón es un grupo de proteínas que tienen numerosas actividades biológicas y cuyo código corresponde a la célula huésped y no al genoma vírico, con

un PM de 20000 a 34000 d, diferente de las globulinas, relativamente resistente al calor y los ácidos, muy poco antigénico, resistente a la amilasa, li pasa, nucleasa y no dializable.

El sistema del interferón se puede distinguir en dos clases en función de su modo de inducción: la primera clase o tipo I, es el clásico interferón inducido por virus; la segunda clase o tipo II comprende a unas linfocinas in ducidas por ciertos antígenos y mitógenos con actividad antiviral y que son conocidas como "interferón inmune" (Falcoff 1972).

La purificación y análisis del interferón por electroforesis en gel de poliaacrilamida en presencia de SDS, ha sido una importante herramienta para diferenciarlo molecularmente. En el humano se han encontrado dos tipos de interferón distintos antigénicamente: el tipo Le, que es producido por linfocitos y células linfoblásticas, y el tipo F, derivado de los fibroblastos. Se sabe además que es mucho más estable el tipo Le que el tipo F, ya que se ha observado que en presencia de agentes desnaturalizantes como urea, guanidina y etanol, el tipo Le conserva su actividad (E. De Maeyer y J. De Maeyer, 1979).

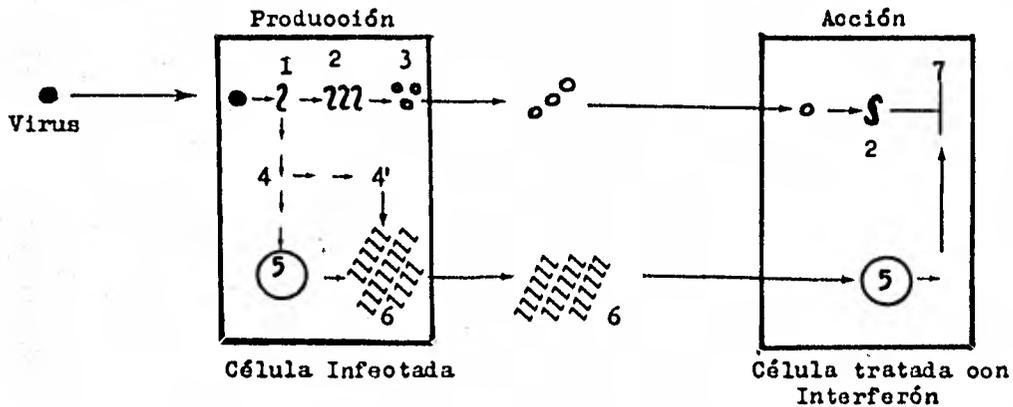
La producción de interferón es una de las primeras respuestas del organismo contra las infecciones virales, y cualquier duda respecto al papel protector del interferón, quedó esclarecida por Gresser y col., quienes trataron a ratones con un potente suero anti-interferón y después los inocularon con virus poco virulentos, encontrando que estos provocaban un efecto fulminante y a veces letal en los ratones así tratados.

El interferón no tiene especificidad vírica, es decir, que el interferón inducido por un virus, por ejemplo de la influenza, protege contra muchos virus ya sean de ADN o ARN; en contraste con esta inespecificidad en cuanto al virus, resulta altamente específico de la especie a que pertenece el huésped, o sea que por ejemplo, el interferón de pollo, protege al pollo contra las enfermedades virales pero no al hombre. Esta condición junto con el hecho de que se obtienen muy pequeñas cantidades con alta actividad biológica constituyen grandes desventajas en su aplicación.

Por otra parte, se sabe que los tejidos adultos producen más interferón que los tejidos embrionarios; del mismo modo, hay datos de que los virus atenuados, como las cepas empleadas para las vacunas, pueden inducir la producción de más interferón que las cepas de virulencia completa. También, aunque al parecer la totalidad de las células animales son capaces de producir toda una gama de moléculas de interferón, las células de la médula ósea, del bazo y los macrófagos parecen tener un papel especial en su producción, sobre todo en aquellos casos en los que la patogénesis se caracteriza por una viremia.

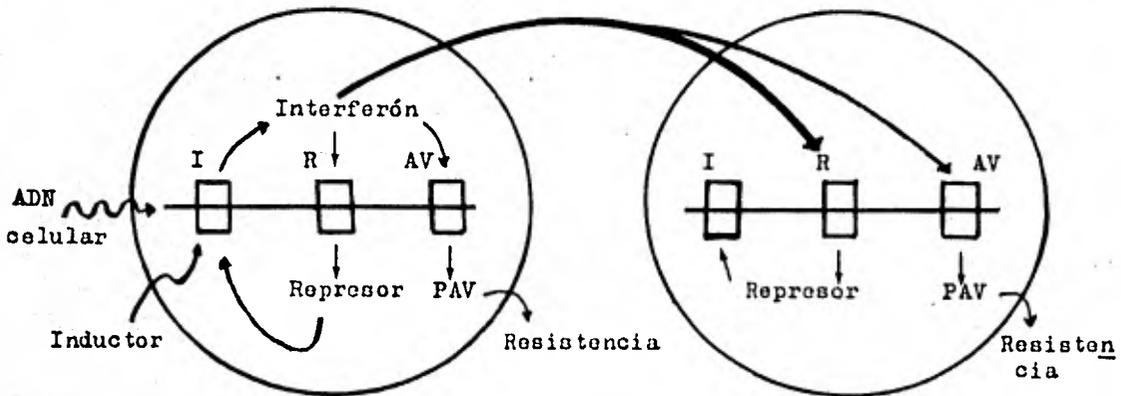
Mecanismo de acción. El interferón no posee acción antiviral directa, sino que ejerce en las células un efecto antiviral reaccionando con ellas y desencadenando la acción de una segunda proteína, que podría ser un polipéptido o una proteína completa. Hay datos en el sentido de que el efecto del interferón se basa en 4 proteínas celulares: una proteína o fono receptor que identifica la molécula inductora de interferón, el interferón propiamente, un represor de la síntesis del interferón y la proteína antiviral. En general se acepta que el mecanismo de acción del interferón exige la producción de la proteína antiviral (PAV), pues los inhibidores de la síntesis de ARNm (actinomicina D) ó de proteínas (cicloheximida) bloquean por completo la acción del interferón contra los virus.

Una vez que el interferón se ha fijado a las células, atraviesa rápidamente la membrana celular hasta llegar al núcleo, donde activa el genoma celular por derepresión de un gen ocasionando la síntesis de un ARNm que se traduce para la síntesis de la PAV. Parece ser que el efecto de la PAV consiste en inhibir ó bloquear la replicación del virus a nivel de la transcripción o traducción.



- 1.- Material genético del virus
- 2.- Material genético nuevo
- 3.- Nuevos virus
- 4.- Estimulación de la célula
- 5.- Núcleo Celular
- 6.- Interferón
- 7.- Bloqueo e inhibición.

MECANISMO DE ACCION DEL INTERFERON



MECANISMO A NIVEL DEL NUCLEO

Genes que codifican para:

I.- Interferón

R.- Represor del interferón

AV.- Proteína antiviral.

Al haber producción de interferón durante una infección viral, las células más cercanas a las células productoras de interferón son las que presentan mayor resistencia al virus; si logra evitar o limitar la infección en el lugar de entrada, no habrá diseminación hasta focos lejanos, o será mínima, por lo tanto la intervención precoz del interferón puede ser muy importante para la evolución de una infección viral. Por último, el interferón puede proteger a los órganos antes de que los virus lleguen a ellos, a través de la sangre o linfa, ya que pocas horas después de la viremia hay interferón en el suero y puede alcanzar rápidamente los órganos susceptibles.

MECANISMOS ESPECIFICOS

Respuesta inmune específica. Se llama respuesta inmune específica a la reacción del huésped ante una sustancia extraña y comprende una serie de interacciones celulares que se manifiestan por síntesis de productos celulares con gran especificidad y heterogeneidad, y por tener memoria, que es el fenómeno por el cual aumenta la respuesta de proliferación y diferenciación de células a causa de nuevos contactos con un antígeno.

La respuesta inmune específica depende de dos mecanismos efectores :

intervención de anticuerpos que son un producto celular de los tejidos linfoides (inmunidad humoral) e intervención de linfocitos sensibilizados específicamente (inmunidad celular). Ambos mecanismos se basan en la intervención de linfocitos pequeños, que provienen de células primitivas de la médula ósea; éstas células primitivas se diferencian para dar lugar a dos poblaciones distintas de linfocitos cuando menos : linfocitos dependientes del timo (células T) y los linfocitos procedentes de la médula ósea (células B). Las células B y su descendencia sintetizan anticuerpos. Las células T son necesarias para la inmunidad celular y en ocasiones estimulan a los linfocitos B para la producción de ciertos anticuerpos.

La respuesta inmune específica se puede producir de dos maneras :

Immunidad activa . Que se lleva a cabo por exposición natural (enfermedad) ó artificialmente (inmunizaciones); se manifiesta por fenómenos celulares de proliferación y diferenciación en los tejidos linfoides que dan lugar a la producción de anticuerpos o al desarrollo de inmunidad de origen celular, o a ambas. Este tipo de inmunidad se manifiesta después de un tiempo de exposición al antígeno, que puede ser en forma natural o por administración de vacunas, y puede durar meses o años.

Immunidad pasiva . Aquí no hay intervención activa del huésped, sino transferencia de anticuerpos de un huésped inmunizado activamente a otro, su acción es inmediata, pero como no hay estímulo para que continúe la síntesis de anticuerpos, el efecto es transitorio. Son ejemplos de éste tipo de inmunidad la transferencia de la madre al feto y el empleo de gama globulinas en la profilaxia.

INMUNIDAD HUMORAL . Durante las infecciones virales, y después, se producen los anticuerpos específicos (inmunoglobulinas, que son proteínas) de los que se pueden distinguir cinco tipos, por su tamaño y movilidad electroforética; cada variedad de Ig tiene una función diferente . Es prueba contundente de la importancia de los anticuerpos humorales, el hecho de que la administración pasiva de gama globulinas protegen contra la infección, o reducen la gravedad de una infección existente.

Las inmunoglobulinas tienen diferente papel en la protección contra las enfermedades virales, así, se ha visto que las de la clase IgM son las primeras que aparecen después del contacto primario con el antígeno, tienen una especial importancia en cuanto a la destrucción de células infectadas y de virus provistos de envoltura, con intervención del complemento ya que tienen una mayor actividad para fijarlo.

Los anticuerpos de la clase IgG explican la mayor parte de la actividad antiviral del suero, y la eficacia de la administración de vacunas de virus muertos depende en gran parte de la formación de estos anticuerpos. Una propiedad de la IgG es que puede atravesar la barrera placentaria, por consiguiente, los recién nacidos están dotados al nacer de anticuerpos de la madre, que los protegen contra muchas infecciones virales durante el periodo neonatal - crítico, en el cual los mecanismos productores de anticuerpos del niño son relativamente ineficaces. Las IgG también pueden fijar el complemento, que parece ser indispensable para la neutralización de ciertos virus y para la citólisis mediante anticuerpos, de las células infectadas por virus.

En años recientes, se ha demostrado que los anticuerpos secretorios desempeñan un papel importante en la protección del huésped contra los virus, en particular contra aquellos que producen infecciones localizadas; existe una cantidad alta de IgA en diversas secreciones como moco, secreciones de las vías urinarias y glándulas salivales, lagrimales y mamarias.

El papel biológico de la IgD aún no está muy esclarecido.

Los anticuerpos de la clase IgE son los responsables de los trastornos alérgicos, también se encuentran en las secreciones externas y no se ha podido establecer con certeza el papel que desempeñan en las infecciones virales.

Otro mecanismo humoral específico es la neutralización de virus, la cuál se define como una disminución del poder infectante del virus, a consecuencia de su interacción con el anticuerpo específico. Esta unión es reversible, de modo que por dilución o algún otro tratamiento fisicoquímico, se pueden disociar el virus intacto al igual que el anticuerpo neutralizante. El mecanismo por el cual, el anticuerpo neutraliza el poder infectante del virus, depende del virus, de la variedad de anticuerpo, de la relación cuantitativa entre éste y el virus y del virus mismo.

Hay varias hipótesis respecto a como se lleva a cabo la neutralización: una es que los anticuerpos neutralizantes (tipo IgG) logran su efecto mediante una inhibición de la adsorción viral sobre las células, ya que al unirse al virus modifican su estructura, evitando así que este se una a los sitios receptores celulares.

Existen además otro tipo de anticuerpos no neutralizantes que si bien, como su nombre lo indica, no neutralizan al virus, se llegan a comportar como opsoninas facilitando la fagocitosis y destrucción del virus.

INMUNIDAD CELULAR. La respuesta debida a células (hipersensibilidad tardía) es otro mecanismo para explicar las defensas inmunológicas específicas del huésped, incluye las manifestaciones de la respuesta inmune que se expresan a través de linfocitos sensibilizados (células T y macrófagos) por antígenos de forma específica que liberan varias moléculas efectoras, incluyendo interferón, factor inhibidor de macrófagos (MIF) y linfotoxinas. El sistema inmunitario celular constituye un importante mecanismo de vigilancia y rechazo de células extrañas o de células portadoras de alteraciones cromosómicas o parásitos intracelulares. No se ha logrado esclarecer todavía la intervención exacta de la inmunidad celular en las infecciones virales pero en muchas de éstas infecciones pueden existir determinantes antigénicas víricas en las membranas celulares, ya sea por incorporación de las determinantes dentro de la membrana o bien a consecuencia de la liberación del virus a través de la membrana, y se piensa que las sustancias efectoras de origen celular logran la destrucción de éstas "células blanco" del huésped, evitando así la replicación del virus.

La inmunidad celular parece desempeñar un papel predominante en las infecciones citolíticas, en cuyo caso la membrana celular muestra alteraciones antigénicas, y la principal vía de diseminación es el paso de virus de una célula a otra.

INMUNOPATOLOGIA HUMORAL Y CELULAR. La respuesta inmune, que en un momento dado desempeña un papel protector y terapéutico en las enfermedades víricas puede presentar un efecto opuesto ya que la patogenia de ciertas enfermedades puede estar directamente ligada con las alteraciones inmunológicas inducidas por el virus infectante, por ejemplo, se sabe que los virus pueden afectar profundamente la inmunidad humoral (virus de la rubeola y leucovirus), la inmunidad celular (virus del sarampión, influenza, varicela, poliomielitis, hepatitis y virus Epstein-Barr) y la fagocitosis ejercida por el sistema reticuloendotelial (virus de las paperas, influenza y coxsackie); esto se ha comprobado porque han observado que los linfocitos obtenidos de personas con hepatitis infecciosa, muestran una menor capacidad de transformación blástica, y los neutrófilos infectados con virus de las paperas, influenza o coxsackie son menos eficaces en la fagocitosis de bacterias.

Existen varias hipótesis para explicar la inmunosupresión ejercida por los virus, entre ellas tenemos: alteración en la captación del antígeno, disminución de la síntesis de anticuerpos, destrucción de células productoras de anticuerpos y de sus precursores, así como la competencia entre el virus infec-

tante y los antígenos inmunizantes frente a células productoras de anticuerpos todavía no especializadas.

Por otra parte los daños tisulares producidos por los virus pueden inducir la producción de inmunoglobulinas específicas en el caso de virus con envoltura que sintetizan su capa externa a partir de membranas celulares, y de esta manera, los nuevos virus que poseen determinantes antigénicos que comparten con las células, pueden estimular la producción de anticuerpos contra las propias células.

Los mecanismos inmunopatológicos ligados con el virus, intervienen en la patogenia de algunas infecciones crónicas, en la coagulación intravascular generalizada de las enfermedades exantemáticas, en la glomerulonefritis crónica de origen viral, las enfermedades autoinmunes y en los padecimientos malignos. (A.L. Notkins, 1970).

INTERACCION VIRUS-COMUNIDAD

EPIDEMIOLOGIA. El tercer nivel de la interacción virus-huésped, comprende los aspectos epidemiológicos y ecológicos que intervienen en la relación virus-comunidad, y su estudio es muy importante por el hecho de que las interacciones que se producen entre los virus y los individuos, dependen de los factores ambientales, geográficos y de las relaciones que existan entre los mismos individuos de una comunidad, tales factores pueden determinar la prevalencia, evolución y frecuencia de ciertas enfermedades.

En general, la Epidemiología estudia las manifestaciones masivas de las infecciones infecciosas, en grupos humanos o animales, sean éstas víricas o de otra etiología. A este respecto, MacMahon (1960), ha definido a la Epidemiología como "el estudio de la distribución y los determinantes de la persistencia de la enfermedad en el hombre". La distribución se describe en términos de edad, sexo, raza, zona geográfica, etc., y los determinantes de la persistencia comprenden la interpretación de la distribución en relación con las características del huésped, agente causal, ambiente, así como el momento y localización de la enfermedad.

Es conveniente recordar que una Epidemia la podemos definir como la aparición en una comunidad o región, de cierto número de casos de una misma enfermedad, claramente superior a las previsiones corrientes; así por ejemplo, uno o dos casos de viruela podrían haber sido una epidemia en E.U., mientras que 30 o 40 casos de esta enfermedad pudieron no representar trastornos en Africa Central, antes que la viruela se erradicara del mundo.

Si queremos indicar la presencia habitual de una enfermedad en una área geográfica empleamos el término Endemia; así por ejemplo, el paludismo se considera endémico en ciertas áreas tropicales. El término Pandemia se refiere a una enfermedad que surge como una epidemia y que se propaga a nivel mundial, como fué el caso de la gripe asiática en 1957.

Por otro lado, la Incidencia es el número de nuevos casos de la enfermedad, que aparecen en una población en cierta unidad de tiempo; en cambio - el término Persistencia se aplica a todos los casos, tanto los antiguos como los nuevos, que existen en un momento dado por cada 100 000 habitantes.

El análisis estadístico en Epidemiología adquiere gran importancia, debido a que las valoraciones de los hechos generalmente deben realizarse sobre una población determinada, registrando el número de individuos que sufren la enfermedad y/o que mueren.

Para el control epidemiológico de los padecimientos virales se emplean ciertos índices que permiten tener un conocimiento confiable del número de personas enfermas y de la mortalidad en grupos determinados de población, - por ejemplo :

INDICE DE MORBILIDAD. Nos indica el número de enfermos presentes por u nidad de población en un tiempo determinado; también puede expresarse en tér minos de nuevas enfermedades, en lugar del número de nuevos individuos suscep tibles a sufrir la enfermedad. Existe una diferencia entre estas dos defini - ciones, ya que por ejemplo, si en un plazo de un año , registramos a las per sonas que han sufrido resfriado, los resultados serán menores que si lo que - registramos es el número de resfriados, puesto que un solo individuo puede pa decer más de un resfriado en un año.

$$\begin{array}{l} \text{Incidencia de} \\ \text{Morbilidad de} \\ \text{causa específica} \\ \text{(personas)(IME)} \end{array} = \frac{\text{Nuevos casos (personas) de una enfermedad} \\ \text{ocurridos durante un periodo determinado.}}{\text{Población expuesta en el punto medio del} \\ \text{periodo.}} \times 1000$$

Si por ejemplo, de 50 estudiantes, 10 presentan un cuadro de resfriado en 4 semanas , tenemos :

$$\text{IME} = \frac{10}{50} \times 1000 = 200$$

200 de cada mil estudiantes enferman en 4 semanas

Pero también pudiera ocurrir que entre los 10 estudiantes que enfermaron, 4 sufrieron resfriado en ese mes, lo cual originará 14 resfriados. Por lo tanto :

$$\begin{array}{l} \text{IME} \\ \text{Número de casos} \\ \text{de la enfermedad} \end{array} = \frac{14}{50} \times 1000 = 280$$

280 por cada mil estudiantes en 4 semanas

INDICE DE PERSISTENCIA. Es otra medida de morbilidad, que se define como la valoración del número total de personas enfermas entre una población definida en un momento determinado. Si las enfermedades se miden con éste índice, serán numericamente las mismas que las personas afectadas :

$$\text{Indice de Persistencia} = \frac{\text{Personas enfermas en un momento dado}}{\text{Población en ese momento}} \times 1000$$

INDICE DE MORTALIDAD. Se refiere a los casos de muerte que se registran en una población

$$\begin{array}{l} \text{Indice Bruto} \\ \text{de} \\ \text{Mortalidad} \end{array} = \frac{\text{Muertes en un año}}{\text{Población existente a la mitad del año}} \times 1000$$

Existen otros índices de mortalidad específicos por edades, causas, sexo, etc., que resultan a menudo mucho más útiles y comparables que los índices brutos de mortalidad, por ejemplo, el índice de mortalidad infantil.

ASPECTOS ECOLOGICOS. La influencia del medio ambiente sobre la aparición de enfermedades es una parte importante de la Epidemiología. El medio ambiente va a ejercer su influencia sobre las vías de transmisión y los patrones de comportamiento del huésped. Por ejemplo para las infecciones que requieren vectores para su transmisión, el medio ambiente ejerce un papel obvio, ya que restringe la aparición de la enfermedad a las áreas con temperatura, humedad, vegetación, abundancia de reservorios, etc. necesarios para que dichos vectores puedan desarrollarse.

Por otro lado, en las enfermedades virales, cuyo modo de transmisión es el agua (enterovirus, hepatitis A), factores como un clima caluroso y condiciones insalubres(contaminación fecal, hacinamiento) amplían el grado de exposición y la eficiencia de la transmisión. Pero quizá el papel crucial del clima sobre las enfermedades virales, es el que se ejerce sobre el comportamiento social del huésped. En los sitios tropicales y durante el verano en los sitios templados, la oportunidad de transmisión de las afecciones gastrointestinales se incrementa a través del contacto con el agua de las albercas o bebida de refrescos contaminados.

Por otro lado, en invierno, la gente tiende a permanecer dentro de sus casas y edificios el ambiente dentro de éstas tiende a ser caliente y seco, por lo tanto, bajo estas condiciones, se favorece la transmisión de infecciones por contacto aéreo o aerosoles.

Por último, la urbanización de las grandes ciudades también ha influido en la aparición de enfermedades, de modo que como Cockburn (1963) señala, si el hombre viviera en pequeños grupos, una infección, por ejemplo el sarampión, no sobreviviría mucho tiempo, porque la reserva de posibles huéspedes a infectar se agotaría.

Dentro de la misma urbanización, la congregación de mucha gente en sitios cerrados influye en la diseminación de los virus, por ejemplo, las epidemias -

de afecciones respiratorias que suelen aparecer en escuelas, cuarteles y hospitales.

Otros factores que influyen en la diseminación de los virus son : la participación de animales domésticos, que pueden actuar como reservorios, o vectores como en el caso de la mordedura por un animal rabioso. A la transmisión de enfermedades de animales al hombre se le llama Zoonosis, como ejemplos de zoonosis virales tenemos la psittacosis y la ornitosis, en las cuales el hombre adquiere la infección por contacto con las aves.

También el estado inmunológico del individuo y la comunidad se relacionan con la diseminación viral, ya que una disminución de la inmunidad puede dar lugar a la aparición de una epidemia, como parece ser el caso de los brotes de sarampión que se presentan generalmente cuando el porcentaje de individuos sensibles (niños de 1 a 5 años) alcanzan un nivel alto. Como resultado de una epidemia, la población queda inmune, lo cual permite que esta en un momento dado sea resistente a una reinfección. Por esta razón el grado de inmunidad de la comunidad es un factor muy importante para la erradicación de las enfermedades virales, ya que teóricamente sería posible alcanzar un alto grado de inmunidad a nivel mundial, sin embargo, esto no sucede así por la existencia de grupos humanos aislados.

El último punto a tratar respecto a la interacción virus-comunidad es el control y prevención de las enfermedades víricas. En cuanto al primero, se llevan a cabo programas de erradicación de vectores, que se realizan conjuntamente con las organizaciones sanitarias existentes, y a pesar de grandes dificultades, en los últimos años, se ha avanzado considerablemente, así por ejemplo, mediante el control de plagas de insectos vectoras se ha logrado la erradicación de enfermedades como la fiebre amarilla urbana, transmitida por el mosquito Aedes aegypti.

Otros programas incluyen mejorar las condiciones sanitarias de vida como son la purificación del agua, alcantarillado etc., y aunque en parte sería lógico suponer que enfermedades como la hepatitis A y otras provocadas por enterovirus. podrían ser erradicadas, el problema es la existencia de muchas vías de infección.

La medida preventiva más importante ha sido la aplicación de vacunas, por medio de las cuales ha sido posible controlar ciertas enfermedades mortales, y algunas graves, como la poliomielitis.

Actualmente el desarrollo de nuevas vacunas contra las infecciones virales, especialmente contra los virus respiratorios, los de la hepatitis, y los herpes virus, ocupa gran parte de la atención de los investigadores, por la

creciente necesidad de prevenir dichas enfermedades .

BIBLIOGRAFIA

Allison A.C.: Immune responses in persistent viral infections. *J. Clin. Pathol. Suppl.* 6:121 (1972).

Baltimore D.: RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumor viruses. *Nature* 226:1209 (1970).

Baltimore D.: Expression of animal virus genomes. *Bacteriol. Rev.* 35:235 (1971).

Barret James T. : *Inmunología*. 1ra. edición. Ed. Interamericana. México D.F. (1972).

Bellantini Joseph A.: *Inmunología*. 1ra. edición. Ed. Interamericana. México D.F. (1972).

Bishop J.M.: Replicative forms of viral RNA. Structure and function. *Prog. Med. Virol.* 13:1 (1971).

Burekoff S. et.al.: Cell mediated immunity to viral glycoproteins. *Rev. of Infect. Dis.* 2(1): 62 (1980).

Cooper Neil R.: Humoral Immunity to viruses. In *Comprehensive Virology*. Vol.15, Cap.3, pp.123. (Fraenkel-Conrat, eds.) Plenum Press, New York, (1979).

Crumpaker : Viral glycoproteins in infection disease. *Rev. of Infect. Dis.* 2(1): 78 (1980).

Evans Alfred S.: *Epidemiological Concepts and Methods. In Viral Infections of humans; Epidemiology and control*. New York, Plenum Medical, (1976).

De Maeyer E. and J. De Maeyer-Guignard: Interferons. In *Comprehensive Virology*. Vol.15, cap.5, pp.205. (Fraenkel-Conrat, eds.) Plenum Press, New York (1979).

Doerfler Walter: Animal virus- host genome interactions. In *Comprehensive Virology*. Vol. 10, Cap.4, pp.279. Plenum Press, New York, (1977).

Fenner F.: The genetics of animal viruses. *Ann. Rev. Microbiol.* 24:297 (1970).

Fenner F. and Sambrook J.F.: The genetics animal viruses. *Ann. rev. Microbiol.* 18:47 (1964).

Fenner F. and White D.O.: *Viral genetics*. In *Medical Virology*, New York, Academic Press, (1970).

- Fenner F.: The Biology of Animal Viruses. Vol.II. The pathogenesis and Ecology of viral Infections. New York, Academic Press, (1968).
- Fox-Hall : Viruses in families. P.S.G. Publishing Company, Inc. Littleton Mos. (1980).
- Fenner F.: The multiplication of RNA viruses. In The Biology of animal viruses. 2nd. edition, Academic Press, New York, (1974).
- Fundenberg H. et.al.: Primary immunodeficiencies. Report of a WHO committee. *Pediatrics* 47: 927, (1971).
- Glasgow L.A.: Interrelationships of interferon and immunity during viral infections. *J. Gen.Physiol.* 56:212 Suppl. (1970).
- Glasgow L.A.: Immunosuppression, interferon and viral infections. *Fed. Proc.* 30: 1846 (1971).
- Luria S.E. , Darnell E.: General Virology. 3ed ed. Ed. John Wiley and Sons (1978).
- McMahon B., Pugh T.F. and Ipsen J.: Epidemiologic Methods. Little, Brown , Boston (1960).
- Mendel Benjamin: Interaction of viruses with neutralizing antibodies. In Comprehensive Virology. Vol.15, cap.2, pp.37. Plenum Press, New York (1979).
- Mims C.A.: Factors in the mechanism of persistence of viral infections. *Prog. Med.Virol.* 18:1-14 (1974).
- Mims, C.A.: Aspects of the pathogenesis of virus diseases. *Bacteriol. Rev.* 28:30 (1964).
- Notkins A.L. et.al.: Effect of virus infection on the function of the immune system. *Ann.Rev.Microbiol.* 24:525 (1970).
- Notkins A.L.: Commentary: Immune mechanisms by which the spread of viral infections is stopped. *Cell. Immunol.* 11:478-483 (1974).
- Notkins A.L. and Koprowski H.: How the immune response to a virus can cause disease. *Sci. American* 228:22-31 (1973).
- Pennington T.H. and Ritchie D.A.: *Virología Molecular*. Ed. Omega (1979).
- Primrose S.B.: *Introducción a la Virología Moderna*. H.Blume ediciones.(1976).
- Porter D.D.: Destruction of virus infected cells by immunological mechanisms. *Ann. Rev. Microbiol.* 25:283 (1971).

Oldstone Michael B.A.: Immune response, Immune tolerance y viruses. In Comprehensive Virology. Vol.15, Cap.1, (Fraenkel- Conrat, eds.,) Plenum Press , New York, (1979).

Smith H.: Mechanisms of virus pathogenicity. *Bacteriol. Rev.* 36:291 (1972).

Rossen R.D. et.al.: The secretory immune systems: its relation to respiratory viral infection. *Prog. Med. Virol.* 13:194 (1971).

Temin H.M.: RNA-directed DNA synthesis. *Sci. Am.* 226:25 (1972).

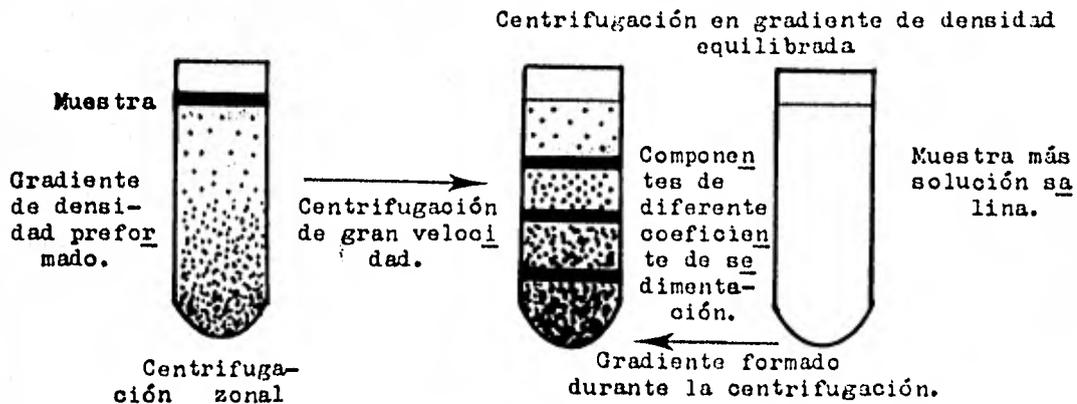
WHO Tech. Rep. Ser. : Cell-mediated Immunity and resistance to infection. No.519, Geneva (1973).

CAPITULO III . METODOS PARA EL ANALISIS Y AISLAMIENTO DE LOS VIRUS.

Para el estudio de los virus, el material utilizado, generalmente son fluidos biológicos y puesto que para las determinaciones físicas y químicas, se requieren habitualmente grandes cantidades de virus altamente purificados y separados de las células infectadas, se hacen necesarios los métodos para su separación y análisis y dentro de los cuales, los siguientes han mostrado ser muy valiosos.

CENTRIFUGACION DIFERENCIAL. Este método se basa en la separación de las partículas según su Peso Molecular, de modo que las partículas más pesadas, se sedimentan en el fondo del tubo de centrifuga, mientras que las mas pequeñas permanecen en el sobrenadante. En la purificación vírica, la centrifugación a baja velocidad elimina primero los restos celulares de las preparaciones impuras de virus, y a continuación la centrifugación a alta velocidad (ultracentrifugación) separa las partículas víricas de las moléculas más pequeñas.

SEDIMENTACION ZONAL. Permite separar partículas aún en caso de que sus constantes de sedimentación sean muy parecidas. En la sedimentación zonal, - se prepara un gradiente de densidad lineal, a partir de un soluto inerte - (CaCl ó sacarosa) en un tubo de centrifuga. La muestra se coloca en la parte superior del gradiente y después de la centrifugación, los distintos componentes de la muestra se han desplazado a diferentes puntos, desplazamiento que depende de sus coeficientes de sedimentación dando como resultado la - formación de bandas. El coeficiente de sedimentación de los componentes depende del tamaño de la partícula, de su forma y de su densidad.



CENTRIFUGACIÓN EN GRADIENTE DE DENSIDAD EQUILIBRADA. Separa partículas de acuerdo a su densidad de flotación y se emplea para separar diferentes tipos de virus de lisados celulares. La muestra se mezcla en un tubo de centrifuga con una solución salina de elevado PM (CsCl ó Cs_2SO_4), para obtener así una mezcla de gravedad específica uniforme. La centrifugación origina mediante las sales, un gradiente de concentración y por lo tanto, de densidad; cada uno de los componentes de la muestra se acumula en una banda o en un nivel en que su densidad es igual a la del gradiente de zona.

ELECTROFORESIS. El desplazamiento de las partículas coloidales en un campo eléctrico se denomina electroforesis. Además de la intensidad del campo eléctrico, intervienen en éste método otros factores, entre los que conviene mencionar, la carga eléctrica, la forma y el tamaño de las partículas. Se sabe que las moléculas de ADN o ARN están cargadas negativamente, de modo que en la cámara de electroforesis se dirigen hacia el cátodo; en cuanto al tamaño de la molécula, mientras mayor sea éste, más lento será su movimiento.

Al efectuar la electroforesis, las moléculas de ARN o ADN de diferente tamaño, se distribuyen formando bandas a distancias variables a partir del origen. Estas bandas pueden ponerse de manifiesto tanto por coloración, como por autorradiografía (en caso de que el ácido nucleico se halla formado a partir de precursores radioactivos), así como por análisis de cortes finos. La distancia de migración del ácido nucleico es inversamente proporcional al logaritmo de su PM y depende también del tamaño de los poros del gel.

CRONATOGRAFIA. La cromatografía es otro de los métodos que se emplean para la purificación de suspensiones virales, y que se basa en las propiedades estructurales y de carga que poseen los virus.

En la cromatografía por intercambio iónico, la purificación se lleva a cabo por adsorción y elución de los virus, ya que estos son macromoléculas cargadas eléctricamente y como tales pueden adsorberse a compuestos intercambiadores de iones, tales como la DEAE (diethylaminoocelulosa), el Dowex y el Ecteola. A algunos valores de pH o de concentraciones salinas, los virus pueden eluirse de estos compuestos. Las impurezas pueden eliminarse empleando eluyentes adecuados a diferentes concentraciones iónicas.

Aunque por medio de ésta técnica se han purificado gran cantidad de virus presenta los inconvenientes de que algunos de ellos se inactivan debido a la adsorción sobre las resinas, además de que a veces resulta muy difícil eluirlos.

Otro proceso de purificación, que se ha utilizado con buenos resultados,

es el empleo de un gel polisacárido de dextrana (Sephadex) en el cual los virus se separan de los restos celulares contaminantes por sus diferencias en peso molecular, quedando por lo tanto atrapadas las partículas más grandes, que no pueden atravesar los poros del gel, dentro de la columna en la que se está llevando a cabo la separación. Los virus entonces, por su pequeño tamaño se desplazan rápidamente a través del gel y son los primeros en aparecer en las fracciones recogidas. Por ser el gel prácticamente inerte, este método resulta adecuado para la obtención de virus purificados.

DIFRACCION DE RAYOS X. Cada átomo de un cristal tiene el potencial para dispersar un haz de rayos incidente en él. La suma de todas las ondas dispersadas en el cristal dá por resultado el haz de rayos X que es difractado de cada plano permitido del cristal. Toda sustancia cristalina dispersa los rayos X en su propio patrón de difracción único, produciendo una huella de su estructura atómica y molecular. La intensidad de cada reflexión nos dá la información básica requerida en el análisis de la estructura del cristal. Una característica de la difracción de los rayos X es que los componentes se identifican como compuestos específicos.

Preparaciones purificadas de viriones que forman cristales verdaderos, (poliovirus y virus del tomate) o paracristales, esto es, partículas en forma de bastoncillos (virus del mosaico del tabaco), se prestan para el análisis estructural por difracción de rayos X, el cual proporciona información sobre la forma y estructura interna de las partículas víricas. Este método, fué el primero en revelar que el virión no es un objeto amorfo; sus estructuras estan hechas de subunidades regularmente ensambladas. El arreglo de estas subunidades es lo que dá al virus sus características intrínsecas de simetría molecular.

MICROSCOPIO ELECTRONICO. El empleo de la difracción de rayos X y la microscopía electrónica, han constituido un gran avance para poder dilucidar las propiedades estructurales y de disposición arquitectónica de los virus, propiedades que tienen considerable importancia para comprender su función y evolución.

El fundamento básico del microscopio electrónico es el mismo que el de luz ordinaria, solo que en el microscopio electrónico la muestra está iluminada por un haz de electrones en lugar del haz luminoso empleado en el microscopio óptico.

El haz de electrones, por su pequñísima longitud de onda, permite aumentos de 100 000 veces, ya que proporciona una resolución entre dos puntos distantes tan solo 0.001 micras (10 amstrongs).

El mecanismo por el cual se forma la imagen en el microscopio electrónico (ME), se puede resumir de la manera siguiente: los electrones son emitidos por un filamento de tungsteno incandescente y acelerados a través de una columna en la que tres lentes (campos electrostáticos y electromagnéticos),-objetiva, intermediaria y proyectora, focalizan el haz, permitiendo que éste llegue con una intensidad máxima sobre la muestra, la cual entonces, puede observarse sobre una pantalla fluorescente, donde cada punto que recibe los electrones se ilumina, reconstituyendose la imagen electrónica punto por punto; al final, el contraste de la imagen se debe principalmente a las diferencias en la difusión de los electrones, por las diferentes regiones de la muestra.

Toda la columna tiene que ser conectada a un sistema de vacío de 10^{-5} mm de Hg, para evitar las interacciones de los electrones con las moléculas de la atmósfera, lo cual causaría aberraciones en la imagen.

Técnica de sombreado. El sombreado es una de las técnicas preparativas de microscopía electrónica mas antiguas (Williams y Wyckoff, 1946), y se utiliza todavía en algunas técnicas, como por ejemplo en el método de Kleinschmidth para ADN. El sombreado se realiza en aparatos de evaporación, en los que un vapor de un metal pasado se proyecta oblicuamente sobre la superficie de la membrana en la cual están prendidas las partículas víricas que quedan cubiertas con una capa de metal electroopaca. El metal se acumula en el lado de la muestra que dá al proyector y queda una "sombra" en el otro lado. Estos dos efectos dan una apariencia tridimensional, sobre todo en las muestras grandes y en las réplicas; sin embargo, la acumulación de metal es importante porque confiere contraste aún a objetos muy pequeños. El tamaño y la forma de las partículas pueden deducirse del estudio de las partes perfiladas y de las sombras y algunos de los metales que mas se emplean son el oro, platino e iridio.

Tinción negativa. En éste método las partículas que carecen del contraste suficiente para observarlas directamente en el microscopio, se incrustan en una película de material denso a los electrones; cuando se miran en el microscopio aparecen como objetos claros sobre un fondo oscuro (de ahí el nombre de tinción negativa).

El método que comunmente se emplea (Brenner y Horne 1959), consiste, en su forma mas sencilla, en mezclar una gota de ácido fosfotúngstico (AFT), con una gota de la suspensión de partículas, depositandose y extendiendose una gota de esta mezcla sobre una rejilla cubierta de carbón. Las partículas que no son penetradas por el AFT permanecen como áreas electrón-relucientes sobre un fondo opaco. Los materiales que se emplean para las tinciones negativas deben tener una densidad electrónica alta, no deben tener estructura fina y deben ser estables al haz de electrones.

Pueden emplearse además del AFT, el silicotungstato de sodio, molibdato amónico y varias sales de uranilo (por ejemplo acetato, formiato y oxalato) que son las que dan un mayor contraste.

A diferencia del sombreado, que solo visualiza el exterior de la partícula, la tinción negativa penetra y permite observar la estructura interna; otra ventaja es que aunque en los dos métodos se produce deshidratación de la muestra, en la tinción negativa el agua se sustituye por una sal que preserva las estructuras delicadas.

Tinción positiva. Ciertos componentes de los virus pueden teñirse por sales que resultan selectivamente adsorbidas, de modo que aumenten su densidad electrónica. Unos ejemplos de dichas sales son el tetróxido de osmio y el acetato de uranilo que tiñe específicamente el ADN viral.

Cortes finos. Se emplean para estudiar las partículas virales en las células o en los organelos centrifugados, y constituyen un factor importante en ciertas técnicas preparativas para la microscopía electrónica. Los cortes del material se realizan con un ultramicrotomo, cuya cuchilla es de cristal o diamante y proporciona secciones finas de 0.1 a 0.2 micras.

Los diferentes métodos no producen tamaños iguales. El tamaño de un virus será máximo en las preparaciones sombreadas, que aumentan el contraste en la periferia de las partículas, y mas pequeño en las preparaciones negativamente teñidas, dado que el fosfotungstato revela los detalles de la superficie y será incluso mas pequeño en las secciones donde la acción de las cuchillas tienda a colapsar las partículas.

AISLAMIENTO DE VIRUS.

SUBSTRATOS PARA LA REPLICACION VIRAL. Puesto que los virus son organismos intracelulares estrictos, las técnicas necesarias para su conservación y replicación, son más complejas que las que se utilizan para el cultivo de bacterias.

Los tres métodos más comúnmente empleados para el cultivo de virus son: 1) Inoculación en huevos embrionados, 2) Inoculación en animales y 3) Cultivos celulares.

CULTIVO DE VIRUS EN HUEVOS EMBRIONADOS. La inoculación en huevos embrionados es uno de los medios más empleados para el cultivo de virus y rickettsias; muchos virus se han adaptado fácilmente a éste sistema, sin embargo una gran cantidad de ellos no logran cultivarse adecuadamente.

Los embriones que por lo general se emplean son los embriones de pollo, debido a que se pueden adquirir con relativa facilidad, su costo no es muy elevado, tienen tamaño adecuado y no se estimula la formación de anticuerpos contra el virus inoculado. Además están exentos de infecciones latentes y de contaminaciones externas, aunque debe controlarse la no existencia de los virus de la bronquitis infecciosa y la enfermedad de Newcastle.

Algunos de los factores que influyen en el crecimiento de los virus en embriones de pollo son: edad del embrión, vía de inoculación, dilución y volumen del inóculo, temperatura de incubación, tiempo de incubación después de la inoculación y el estado fisiológico y nutricional de las aves, especialmente por lo que respecta a deficiencias vitamínicas y al empleo de inhibidores enzimáticos e inactivadores.

Se recomienda usar incubadoras eléctricas con termostatos, reguladores de humedad, circulación de aire y dispositivo de volteo automático. Al principio la incubación del huevo embrionado puede realizarse a 38-39°C pero después de la inoculación, la temperatura adecuada es de 37 a 37.5°C, requiriéndose en ocasiones temperaturas aún más bajas, lo cual está en función del virus inoculado.

Para utilizar con éxito el cultivo de virus en los embriones de pollo, se requiere conocer el desarrollo y fisiología de los mismos.

El embrión comienza a desarrollarse bajo la forma de una membrana de células que recubre el polo superior de la yema (saco vitelino). La membrana alantoidea aparece al tercer día, aumentando de tamaño hasta los días 11 y 13. A partir del quinto día de incubación, se desarrolla el amnios envolviendo completamente al embrión, excepto en la región del saco vitelino. Del 6o. al 13o. día el volumen del líquido amniótico es de aproximadamente 1 ml. A partir del 9o. día pueden observarse movimientos de deglución; hacia el 10o. día, el embrión aumenta rápidamente de tamaño y aparecen las plumas; el corión rodea casi totalmente el contenido del huevo y está en contacto inmediato con la membrana fáfara que es la membrana que tapiza interiormente la cáscara.

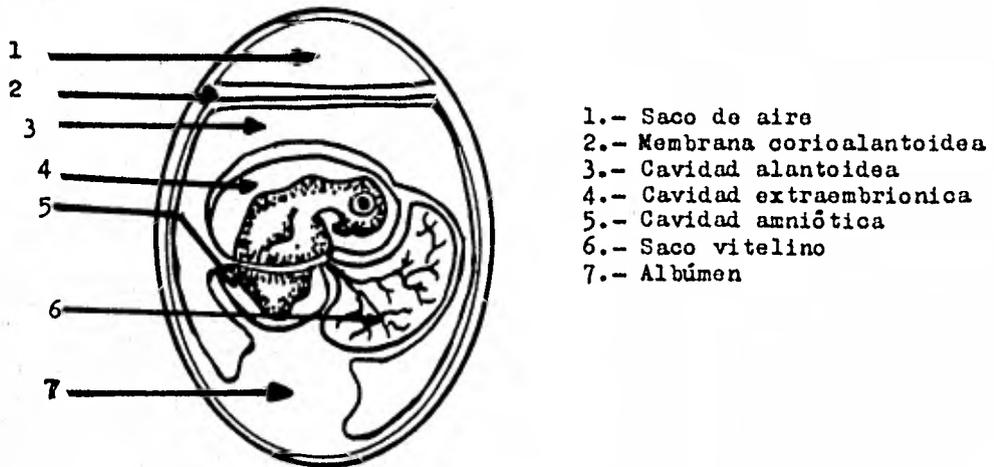
En las primeras fases del desarrollo, los líquidos amniótico y alantoideo son en esencia, soluciones salinas fisiológicas. Después del 12o. día, el contenido proteico y la viscosidad del líquido amniótico aumenta. El saco vitelino está formado por una membrana de células que aumenta su fragilidad al irse desecando progresivamente el contenido del saco, por último, durante la etapa final del desarrollo, el saco vitelino queda incluido en la cavidad abdominal del embrión.

VIAS DE INOCULACION.

Los huevos embrionados pueden inocularse por varias vías y la elección de ésta dependerá del virus y de sus afinidades ó tropismos histicos. Debe tenerse en cuenta la especie de los embriones ya que algunos de los virus no se multiplican favorablemente en los de ciertas aves, como por ejemplo - en los de ganso o pato.

CAVIDAD ALANTOIDEA. La inoculación por ésta vía se realiza en embriones de 9 a 12 días. La cantidad de inóculo es generalmente de 0.1 a 0.2 ml. Entre los virus que crecen bien en esta cavidad figuran los de la peste y pseudopeste aviar (Enfermedad de Newcastle), bronquitis infecciosa, influenza, parotiditis y encefalitis equina del Este, Oeste y de Venezuela.

Esta vía tiene la ventaja de la simplicidad de la inoculación y cosecha del virus, además de proporcionar gran cantidad del virus, lo que permite - realizar análisis químicos, producir vacunas o preparar antígenos para reacciones serológicas.



ESQUEMA DE LA MORFOLOGIA DE UN HUEVO EMBRIONADO.

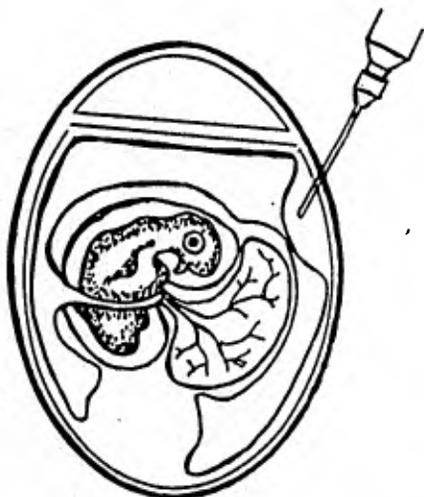


INOCULACION EN CAVIDAD ALANTOIDEA

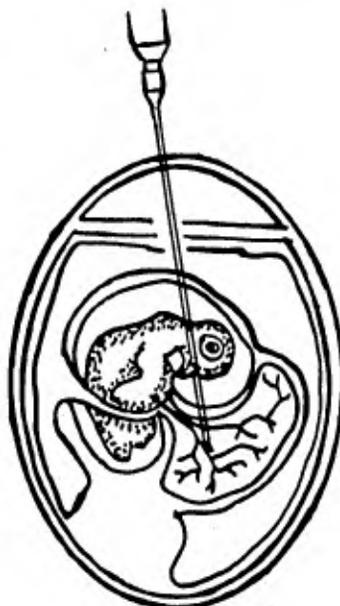
CAVIDAD AMNIOTICA. Se pueden emplear embriones de 7 a 15 días, inoculándolos con 0.1-0.2 ml. La edad de los mismos depende del tipo de virus o del estudio que vaya a realizarse, así por ejemplo, los virus de multiplicación lenta se benefician con la prolongación del periodo de incubación de los embriones. Esta vía de inoculación es adecuada para el aislamiento del virus de la influenza a partir de lavados faríngeos.



MEMBRANA CORIOALANTOIDEA. Se emplean embriones de 10 a 12 días y se inoculan con 0.1-0.5 ml. Esta vía es apropiada para el aislamiento y cultivo de los virus de la viruela, de la laringotraqueítis aviar, de la pseudorrabia - (Enfermedad de Aujezky) y del herpes, que producen focos o pústulas fácilmente reconocibles. La membrana corioalantoidea es un sistema adecuado para el estudio del progreso de las alteraciones patológicas, cuerpos de inclusión, titulación de virus y antisueros, así como para determinar la actividad quimioterápica. Las membranas infectadas se emplean principalmente para la producción de vacunas contra el virus de la laringotraqueítis.



INOCULACION EN MEMBRANA
CORIOALANTOIDEA



INOCULACION EN SACO
VITELINO

SACO VITELINO. Los embriones deben tener 5 a 8 días de incubación, siendo el volumen recomendado para una inoculación por esta vía de 0.2- 1.0 ml. Esta vía es muy adecuada para el aislamiento y cultivo de los virus del grupo de la psittacosis, que proliferan localmente en las células del saco vitelino, y las extensiones de éstas ponen en evidencia numerosos corpúsculos y cuerpos de inclusión. El saco vitelino se emplea para la preparación de vacunas y como antígeno para reacciones serológicas en psittacosis, linfogranuloma venereo, etc.

INTRACEREBRAL. Puede practicarse en embriones de 8-14 días, con 0.01 a 0.02ml., de inóculo. Esta vía se utiliza en el estudio de las alteraciones cerebrales consecutivas de la infección. Los virus del herpes simple y de la rabia, pueden cultivarse por ésta vía.

INTRAVENOSA. Generalmente se emplea esta vía para estudios hematológicos, y no tiene gran aplicación para estudios experimentales. Los embriones que se emplean son de 10 a 15 días y se inoculan con 0.02 a 0.05 ml.

Después de inocularse por cualesquiera de las vías descritas, los embriones se incuban durante 1 a 6 días, examinándose al menos dos veces al día para comprobar la viabilidad del embrión. Algunos virus como los de las encefalitis equinas y enfermedad de Newcastle manifiestan su efecto letal a diferentes etapas, por ejemplo los arbovirus lo presentan a las 24 horas y los virus de Newcastle ocasionan la muerte del embrión a los 2 o 3 días. Algunos virus aumentan su poder letal con pases sucesivos de los que como ejemplos tenemos al virus de la bronquitis infecciosa de los pollos, etc., sin embargo en muchas cepas víricas, se observa una disminución de la antigenicidad y del poder inmunogénico.

Existen otros criterios que nos permiten confirmar la presencia del virus, aún cuando no ocasionan efecto letal sobre el embrión, como son: hemorragias subcutáneas, congestión de la epidermis, enanismo del embrión, engrosamiento y fibrosis de la membrana amniótica, disminución del volumen del líquido amniótico, edema de la membrana corioalantoidea y lesiones pustulares en ella, así como cuerpos de inclusión, etc.

CULTIVO DE VIRUS EN ANIMALES.

Los animales de experimentación se usan desde hace casi un siglo y fueron el procedimiento empleado para el cultivo de virus, después de reconocer que éstos no se podían replicar en los medios de cultivo utilizados para bacterias. Aunque éste método ha sido sustituido en gran parte por el cultivo en huevos embrionados y en cultivos celulares, se sigue empleando para el aislamiento primario de algunos virus y en estudios sintomatológicos, así como en la producción de sueros hiperinmunes y como controles de vacunas. Además los órganos de algunos animales, constituyen una fuente importante para la obtención de cultivos celulares.

Existen, por otro lado, algunos inconvenientes que limitan el empleo de animales: tienen un elevado costo, se hace necesario disponer de un lugar para jaulas y material, pueden existir también infecciones cruzadas entre los animales, además de la existencia de virus latentes que pueden complicar la interpretación de la infección específica.

Los animales que se utilizan de una forma regular en el laboratorio de Virología son los siguientes:

Ratones, cobayos y hámsters. Se utilizan para el cultivo de virus que producen enfermedades neurotrópicas (como el virus de la rabia) y algunas enfermedades virales que producen vesículas en los animales, como en el caso de una infección por herpes simple. Los hámsters se emplean a menudo para estudios genéticos de los virus que ocasionan tumores. Sus órganos se emplean para la obtención de cultivos celulares.

Los conejos, caballos y terneras se emplean en la producción de sueros antivíricos y en el control de vacunas.

Los monos ocupan un lugar especial en las pruebas virales, ya que además de emplear sus órganos como fuente de cultivos celulares, presentan casi el mismo espectro de susceptibilidad a las enfermedades virales que afectan a los humanos..

Algunos otros animales se destinan a fines especiales, por ejemplo, las palomas y pavos, para estudios de psittacosis y ornitosis.

VIAS DE INOCULACION.

Las vías de inoculación en los animales, dependen tanto de la sensibilidad del huésped, como del tropismo viral, siendo las mas frecuentes:

VIA INTRACEREBRAL. La inoculación por ésta vía se hace generalmente anestesiando al animal y el volumen depende del tamaño del mismo. Para ratones adultos y recién nacidos, se recomiendan volúmenes de 0.01 y 0.03 ml., respectivamente. Para animales superiores, como conejos, perros y monos, el volumen varía de 0.25 a 2.0 ml., y es necesario hacer una pequeña horadación en el cráneo para poder introducir la aguja.

VIA INTRAVENCOSA. Esta vía presenta la desventaja de localizar en forma correcta las diferentes venas periféricas de los animales. En ratones y ratas, la vena de la cola es la mas adecuada, en conejos la inoculación se hace en la vena marginal de la oreja, en perros y gatos la mas usada es la vena radial. Cuando no se pueden localizar las venas periféricas, se emplea la vía intracardíaca.

VIAS INTRAPERITONEAL, INTRAMUSCULAR Y SUBCUTANEA. Estas tres vías de inoculación son las más frecuentemente empleadas y se practican en todo tipo de animales, dependiendo la cantidad del inóculo del tamaño del animal.

VIA INTRANASAL . Esta vía generalmente se emplea en ratones, aunque también se puede usar para inocular otros animales como monos y conejos. La inoculación se realiza depositando dos gotas del inóculo en cada fosa nasal, ya sea con ayuda de una jeringa de tuberculina o con una pipeta capilar. La ventaja de ésta vía es que el inóculo se inhala rápidamente, lo cual favorece la diseminación del virus (por ejemplo de los virus respiratorios).

OTRAS VIAS. La inoculación por vías especiales, se usa cuando se requieren estudios específicos para la observación de reacciones locales, así por ejemplo, en estudios de ciertos tumores, se inocular a hámsters en la parte lateral de la cara, y la cornea de ciertos animales se puede infectar con virus del grupo de los herpesvirus y poxvirus.

CULTIVOS CELULARES.

En 1949, Enders, Weller y Robbins iniciaron la utilización de los cultivos celulares en la Virología. Por medio de éstas técnicas se han logrado cultivar muchos virus que no se multiplican ni en el embrión de pollo ni en los animales de laboratorio, facilitándose en forma considerable tanto el diagnóstico de laboratorio, como la elaboración de vacunas y los estudios sobre quimioterapia.

El empleo de cultivo de células, además de permitir el descubrimiento de nuevos virus, facilitó el estudio de los ya conocidos, por ejemplo, el virus de la poliomielitis, lo cual originó la aparición de vacunas contra esa enfermedad y otras de etiología viral. Gracias a los cultivos celulares se han podido esclarecer las relaciones virus-célula huésped, los mecanismos de infección, permitiendo al mismo tiempo realizar estudios a nivel molecular de los virus.

Los cultivos celulares necesitan medios de composición constante y definida para su mantenimiento. Estos cultivos se iniciaron haciendo suspensiones de fragmentos de tejidos en medios nutritivos.

Los cultivos de células se han dividido fundamentalmente en:

1. Cultivos primarios y secundarios
2. Cepas celulares
3. Líneas celulares

Cultivo primario. El cultivo primario proviene directamente de los tejidos de un animal o de embriones. El animal del cual se obtiene el tejido,

se disecta en las máximas condiciones de esterilidad y se extirpan de él los órganos requeridos, estos se fragmentan y después de varios lavados con Solu^oción Salina Balanceada (SSB), las células se desintegran mediante un tratamiento con tripsina o EDTA; una vez dissociadas las células se suspenden en un medio de cultivo líquido y se espera que se depositen, finalmente se hace un recuento celular con un número promedio de 200 000 a 400 000 cel/ml, depositándose en cajas de petri, tubos para cultivo de células, botellas de Roux, o de Falcon, etc. Las células se fijan a la pared del recipiente en el que se siembran y se dividen por mitosis hasta dar lugar a un cultivo primario.

En los cultivos primarios las células conservan muchas de las características del tejido del cual derivan, encontrándose principalmente dos tipos de células:

Delgadas y elongadas (pseudofibroblastos)

Poligonales y tendientes a formar cultivos uniformes (pseudoeitelio o "sábanas").

Además algunas células tienen bordes redondeados pero no forman "sábanas" y se denominan "epitelioides".

Cultivo secundario. Un cultivo secundario de células es un subcultivo - que se obtiene a partir de un cultivo primario confluyente de células normales. Los cultivos primarios y secundarios conservan el número diploide de cromosomas característico del tejido del cual provienen, pero habitualmente degeneran y dejan de dividirse después de un tiempo (generalmente se limita a 2 subcultivos).

Cepas celulares. Las células procedentes de cultivos primarios o secundarios pueden subcultivarse un número limitado de veces (no más de 50 subcultivos), éste proceso suele provocar la selección de algún tipo de células que se convierten en predominante y se dice que se ha originado una cepa celular, la cual conserva el número original de cromosomas y no presenta grandes alteraciones morfológicas.

Líneas celulares. Si durante la multiplicación de una cepa celular, las células adoptan características morfológicas marcadamente distintas, surge - una línea celular, la cual se desarrolla mas rápidamente que los cultivos primarios o que las cepas celulares, y siempre son "heteroploides", o sea que su número de cromosomas es distinto al de las células que le dieron origen. Además poseen un periodo vital ilimitado, esto quiere decir que soportan un número ilimitado de subcultivos, sin perder sus características.

Algunas líneas celulares pueden obtenerse directamente de cultivos - primarios malignos o bien producirlas a través de la infección con virus on ogénicos.

Clonas celulares. Cualquier población celular contendrá células de dis tintas características. Para muchos propósitos esto tienen poco significado pero para el estudio detallado y exacto de las células, obviamente es de de searse un cultivo de células idénticas. De una línea o capa celular se pue de aislar una sola célula, que formará una clona, transfiriéndola a un nue vo cultivo. En el caso de las líneas celulares la proporción de células que sobreviven y dan lugar a clonas es de casi un 100%, mientras que en los cul tivos primarios o las capas celulares, este porcentaje es mucho menor.

CARACTERISTICAS DE LOS CULTIVOS CELULARES.

Los cultivos celulares se caracterizan por la extraordinaria capacidad que presentan las células para interaccionar entre sí en diferentes formas, por ejemplo, entre estas interacciones podemos citar:

Inhibición por contacto. El fenómeno de inhibición por contacto se refiere a la propiedad de las células normales, de detener su crecimiento, una vez que se ha formado una monocapa celular, sin producirse un crecimiento desordenado como es el caso de las células tumorales. A este fenómeno -- también se le llama Topoinhibición.

Envejecimiento celular. El envejecimiento de las células se ha atribuido a una acumulación de lesiones no reparadas en los componentes celulares; las lesiones se refieren a mutaciones en el ADN, lo cual podría disminuir -- la capacidad de crecimiento de las células y tener una acción letal, entonces el envejecimiento de las células in vitro parece depender del número de divisiones y no del tiempo.

Las células procedentes de un organismo determinado tienen la capacidad para crecer indefinidamente después de haber sufrido un "fenómeno de in mortalidad", que se manifiesta por su crecimiento en cultivos con muy asca sa densidad celular y por su elevada capacidad de formar clonas; si este fa nómeno no se produce, los cultivos envejecen y mueren.

FACTORES DE CRECIMIENTO E INHIBICION.

En los cultivos "in vitro", las células necesitan de la adición de -- sustancias nutritivas para mantener su crecimiento, por ejemplo, aminoáci-

dos, vitaminas, azúcares, etc. Holley demostró que los fibroblastos de ratón utilizaban diversos factores del suero sanguíneo y que estos factores eran necesarios para la supervivencia celular, así como para la síntesis de ADN y para el movimiento de las células. Se ha reportado también que el plasma coagulado, y a veces la insulina, pueden proporcionar éste tipo de factores.

Aunque existen líneas celulares capaces de crecer en ausencia del suero su crecimiento depende del pH del medio así como de la concentración de polianiones, para lo cual se emplean Soluciones Salinas Balanceadas, que además sirven como base para la elaboración de los medios de cultivo (por ejemplo, la solución salina balanceada de Hanks). Sin embargo se ha visto que por otro lado, a elevadas concentraciones de polianiones, estos pueden actuar como inhibidores celulares.

El suero sanguíneo es un importante complemento para los cultivos celulares, ya que una vez consumido, las células pueden entrar en una fase estacionaria, en la cual utilizan menos glucosa, fosfatos y otras sustancias, dando como resultado la disminución en su síntesis de ADN y proteínas.

TECNICAS DE CULTIVOS CELULARES

Existe una gran variedad de técnicas para el cultivo de células, pero la más empleada es la "técnica de los cultivos laminares". Este tipo de cultivos se prepara dispersando las células hísticas con una enzima proteolítica como la tripsina, y suspendiéndolas en un medio de crecimiento (por ejemplo, el medio mínimo de Eagle), posteriormente se distribuyen en tubos o botellas. Las células sedimentan sobre la superficie de vidrio o plástico, se adhieren a ella y proliferan hasta que se desarrolla una capa confluyente. Cuando en los cultivos celulares existe el fenómeno de inhibición por contacto, las células frenan su división y en este momento se sustituye el medio de crecimiento por un medio de mantenimiento, el cual contiene solo los nutrientes necesarios para mantener a las células viables, pudiendo emplearse para este fin, bajas concentraciones de suero bovino fetal (SBF) al 2%, dependiendo la concentración de las células que se estén cultivando.

Cultivos en suspensión. Algunos tipos de células pueden desarrollarse en "suspensión", lo cual permite recoger muestras de la población celular durante un periodo de tiempo. Para este fin se han diseñado varias técnicas,

que van desde el uso de tubos que se mantienen en rotación, hasta matraces con agitación y sistemas continuos, en los cuales el medio entra por un extremo del sistema y las células son cosechadas continuamente por el otro. En éste tipo de cultivo es importante controlar el pH ya sea mediante el uso de soluciones salinas o mediante corrientes de CO_2 /aire. Las células que se obtienen por éste sistema pueden usarse para producir suspensiones concentradas de virus.

Clonas celulares. Para cultivar "clonas celulares" se suelen emplear los métodos del capilar, de la microgota o el de la glicerina. En el primero después de ajustar la concentración celular a 50 cel./ml., se llenan los tubos capilares, se sellan a la flama y se incuban para que se desarrollen las células. En el método de la microgota, 3 ó 4 gotas de la suspensión celular, se agregan sobre parafina líquida en una caja Petri, la parafina permite el intercambio de gases pero mantiene aisladas las gotas entre sí. El último método es un método de almacenamiento, que consiste en que una vez dispersadas las células, se resuspenden en un medio que contenga 10% de glicerina y se refrigeran a 4°C bajando luego la temperatura gradualmente hasta -70°C .

SOLUCIONES Y MEDIOS EMPLEADOS EN EL CULTIVO DE CELULAS.

Soluciones Salinas Balanceadas (SSB). Son soluciones equilibradas de sales inorgánicas que sirven como base para casi todos los medios de cultivo y se utilizan como diluyentes generales en el laboratorio de virología.

Las soluciones más empleadas son las de Hanks y Earle, ambas contienen como componente mayoritario el cloruro sódico. Difieren en su capacidad amortiguadora, siendo la última un amortiguador más fuerte y útil en el medio de mantenimiento en donde las células establecidas producen gran cantidad de ácido, mientras que la primera es valiosa en donde los cultivos en desarrollo producen una cantidad mínima. Algunas soluciones contienen además de las sales, glucosa.

El rojo de fenol, indicador de pH no tóxico comprendido en el margen utilizado en trabajos de cultivo histico, constituye una parte integral en la mayoría de los medios. Es de color púrpura a pH 8.4 ó superior, lo cual está por encima del valor tolerado por la mayoría de los cultivos celulares, amarillo a pH 6.8 o inferior y de color rojo en el margen de pH fisiológico.

El ion bicarbonato es necesario para el crecimiento celular y casi to—

dos los medios utilizan un sistema amortiguador de ácido carbónico-bicarbonato de sodio. Puesto que el ácido carbónico es volátil, los cultivos celulares deben mantenerse herméticamente cerrados para desear un aumento indeseable en el pH, sin embargo en ciertos trabajos de laboratorio, es conveniente no depender de un sistema cerrado, para lo cual se emplea entonces un amortiguador no volátil como el HEPES.

La composición de las soluciones salinas balanceadas de Hanks y Earle se presenta en el siguiente cuadro:

Componente	SSB de Hanks (g/l)	SSB de Earle (g/l)
Na Cl	8.0	6.8
KCl	0.4	0.4
CaCl ₂	0.14	0.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	0.2
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0.12	—
NaH ₂ PO ₄	—	0.125
KH ₂ PO ₄	0.06	—
NaHCO ₃	0.35	2.2
Glucosa	1.0	1.0
Rojo de Fenol al 1%	1.6 ml.	1.6 ml.

Medios de cultivo químicamente definidos. Están compuestos por aminoácidos y vitaminas en cantidades conocidas. Los medios que gozan de más difusión son el Medio 199 y los dos medios elaborados por Eagle: el Medio Basal Eagle (BME) que contiene todos los nutrientes requeridos para el desarrollo celular y el Medio Esencial Mínimo de Eagle (MEM), con los mismos componentes pero en concentraciones distintas. El MEM con base Hanks es excelente para el crecimiento de cultivos celulares, y con suero resulta útil para todos los cultivos empleados en Virología. El MEM en base de Earle se emplea para la elaboración de medios de mantenimiento.

Suplementos biológicos. En los medios de crecimiento y mantenimiento casi siempre es necesario emplear suero como suplemento biológico. Este puede ser bovino ó bovino fetal, siendo preferible el último ya que está libre de partículas víricas, así como de Mycoplasma. También puede usarse suero humano, pero no es recomendable ya que resulta indispensable eliminar los anti-

cuerpos víricos presentes; los sueros son estables durante meses cuando se guardan congelados para proteger los componentes lábiles. Otros suplementos pueden ser extractos de embrión, plasma de pollo y algunos líquidos como el amniótico, ascítico y pleural, cuya aceptación no está muy generalizada.

EFEECTO DE LOS VIRUS SOBRE LOS CULTIVOS CELULARES.

1. La forma más común de comprobar el efecto de un virus sobre los cultivos celulares, es la observación directa al microscopio.

Los efectos de la replicación del virus dentro de una célula pueden ir desde una falta total de efectos observables, hasta la destrucción completa de la misma. La variedad de efectos citopáticos (ECP) depende del virus y del sistema celular que se utilice, pero los cambios morfológicos que se observan en un sistema dado suelen ser constantes y pueden aprovecharse como base de clasificación preliminar o identificación diagnóstica.

Entre los cambios morfológicos que ocasiona más frecuentemente una infección viral, destacan: 1) lisis o necrosis celular, 2) la formación de células "gigantes" multinucleadas llamadas sincicios; se forma un sincicio -- cuando las alteraciones de la membrana celular, producidas por el virus, ocasionan la fusión de células contiguas que en la primera fase no fueron destruidas y su aspecto es el de una masa de citoplasma que contiene varios núcleos; 3) aparición de acúmulos o grupos de células que se forman cuando las membranas se alteran y las células quedan adheridas sin confundirse; 4) formación de "cuerpos de inclusión" que son estructuras intranucleares o intracitoplásmicas de naturaleza viral y que en ocasiones resultan importantes desde el punto de vista diagnóstico, como en el caso de los virus de la rabia (Cuerpos de Negri).

Los enterovirus, citomegalovirus, adenovirus, virus sincicial respiratorio, herpes virus y con frecuencia los virus de las paperas, dan lugar a un efecto citopático característico.

La inhibición metabólica es otra forma de demostrar la presencia de virus en las células ya que pueden ocasionar un ascenso o descenso del pH, indicado generalmente por el rojo de fenol que se encuentra en el medio de cultivo. Cuando las células infectadas dejan de metabolizar debido a la acción del virus sobre ellas, no producen ácido y el medio no cambia de color, como

ejemplo, los adenovirus favorecen la formación de productos finales ácidos y el pH del medio resulta más bajo que en el caso de los cultivos no infectados.

Hay ciertos virus que no producen ECP al multiplicarse en las células, y para poder reconocer su presencia es necesario recurrir a métodos indirectos, como por ejemplo la técnica de hemoadsorción.

BIBLIOGRAFIA

- Cumming Hamish: Virología; cultivo de tejidos. Ed. El Manual Moderno. México, 1975.
- Cunningham C. H.: Virología Práctica. Ed. Acribia, España (1971).
- Kuehler R.G.: Biochemical methods in cell culture and Virology. Dowden, Hutchinson, Ross. Inc. USA, (1977).
- Lennette E.H. and Schmidt N.J. : Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamidial Infections. American Public Health Association Inc. Washington D.C. (1978).
- Ludlum D. Band and Warner R.C.: Equilibrium centrifugation in cesium sulfate solutions. J. Biol. Chem. 240:2961-2970 (1965).
- Miyamoto K. and C. Morgan: Structure and development of viruses as observed in the electron microscope. J. Virol. 8:910-918, (1971).
- Mercer E.H. y Birbeck M.S.: Manual de microscopía electrónica para biólogos. H. Blume Ediciones, (1979).
- Prier James E: Laboratory cultivation of viruses. "Basic Medical Virology". Ed. Williams and Wilkinson Co., (1978).
- Rovozzo G.C. and Burke C.N.: A manual of Basic Virological techniques. First Edition. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, USA, (1973).
- Williams R.C.: Spectroscopes, telescopes. Am. Rev. Microbiol. ----- 32:1-18 (1978).

EJEMPLOS DE ALGUNAS LINEAS CELULARES

LINEA CELULAR	ESPECIE DE ORIGEN	TEJIDO DE ORIGEN	MORFOLOGIA	PLOIDIA	VIRUS
HeLa	Humana	Carcinoma de cervix	Epi 1*	Aneu	Poliovirus, Coxackie tipo B, parainfluenza tipo 2, respiratorio sincisial, herpes virus.
Detroit 6	"	Médula ósea	Epi	Aneu	Enterovirus, adenovirus,
Hígado Chong	"	Hígado	Epi	Aneu	Rubeola, influenza tipo A parainfluenza 3, adenovirus 3 poxvirus
K B	"	Carcinoma oral	Epi	Aneu	Enterovirus, ortomixovirus, paramyxovirus, herpes simple, poxvirus
Detroit 98	"	Médula ósea	Epi	Aneu	Poliovirus, Coxackie tipo B, adenovirus tipo 3 y 4
Hep-2	"	Carcinoma de laringe	Epi Epi	Aneu Aneu	Influenza tipo A, Paramyxovirus, Influenza tipo A, Paramyxovirus, adenovirus tipo 1-7, Herpes simple poxvirus
J-111	"	Sangre periférica	Epi	Aneu	Poliovirus, Coronavirus
LLC-MK2	mono	Riñón	Epi	Aneu	Enterovirus, rubeola, adenovirus, parainfluenza 2 y 3
BHK21	Hamster Sirio	Riñón	Epi	Aneu	Influenza tipo B, Parotiditis, virus de la rabia, reovirus, adenovirus tipo 2, viruela
L	Ratón	Tejido conectivo	Fib ₂	Aneu	Ortomyxovirus, Influenza tipo A
NCTC-929	"	"	"	Aneu	Reovirus
Wish	humana	Amnios	Epi	Aneu	Enterovirus, parotiditis, resp. sincisial, adenovirus 1-7
Vero	mono verde	Riñón	Epi	Eu	
MA-104	mono	Riñón fetal	Epi	Eu	Rotavirus
CHO	Hamster chino	ovario		Eu	Se emplean generalmente para <u>E. coli clostridium</u> y amibas

- *1 Epi - Epitelial
- 2 Fib - fibroplasto
- Aneu - Aneuploide
- Eu - Euploide

CAPITULO IV . DIAGNOSTICO DE LAS INFECCIONES VIRALES

Aún cuando los virus, causan el mayor número de enfermedades en el hombre y animales, solo un grupo reducido de laboratorios clínicos, realizaban hasta hace poco, diagnósticos virológicos. Esta situación se debía a que, a pesar de los adelantos técnicos, la mayor parte de los métodos aplicados a virus, resultan demasiado costosos, además de que en la gran mayoría de las pruebas virológicas, los resultados no pueden obtenerse a corto plazo, disminuyendo así su aplicación diagnóstica.

Puesto que ultimamente se han descubierto fármacos de valor para el tratamiento de enfermedades víricas específicas (por ejemplo: 5IU, Amantadina, Marboran, etc.), se han desarrollado métodos más rápidos que permiten obtener un diagnóstico etiológico en pocas horas, por ejemplo la determinación de anticuerpos IgM específicos, o la detección de antígenos víricos por microscopía de fluorescencia, que junto con otros métodos serológicos resultan menos caros y pueden aplicarse en los laboratorios clínicos.

En el diagnóstico de laboratorio pueden considerarse 3 facetas principales: 1) la observación microscópica de las muestras en busca de posibles alteraciones patológicas, o bien la observación al microscopio electrónico del propio virus; 2) el aislamiento e identificación del agente causal y 3) la cuantificación de anticuerpos específicos durante la evolución del padecimiento. En cada caso, el método seguido depende de la naturaleza de la infección, de la etapa de la enfermedad y de la comparación entre el valor de la información con que se cuenta y del tiempo y costo del estudio.

SELECCION, RECOLECCION Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Las muestras seleccionadas para el aislamiento de los virus, son obtenidas de los órganos y/o tejidos que están más relacionados con el proceso patológico, sin embargo, no siempre es posible obtener los tejidos del sitio lesionado, antes de la muerte del individuo, de modo que por ejemplo, en una enfermedad respiratoria, en lugar de tomar muestras de tejido pulmonar, se obtendrán lavados o secreciones faringéas.

En otras enfermedades virales, la muestra apropiada se obtiene de fuentes aparentemente no relacionadas con el tejido u órgano blanco. Por ejemplo

los poliovirus, los cuales atacan al SNC, se aíslan más fácilmente de las heces, ya que el tracto digestivo es el primer sitio de replicación del virus.

Por otro lado, las muestras biológicas para el aislamiento del virus deben obtenerse lo más pronto posible después de la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad, y de preferencia tomarse durante la fase aguda del padecimiento.

Respecto al tipo de muestras que deben tomarse para el aislamiento de los virus, existen algunas normas establecidas, por ejemplo, en todos los casos de pacientes con meningitis o encefalitis, deben recolectarse muestras de heces, frotis faríngeos y suero sanguíneo; si se sospecha de paperas, la orina puede ser también de valor diagnóstico; en todos los pacientes con síndromes respiratorios se precisan muestras de secreción bronquial y exudados ya sea faríngeos, de amígdalas o de fosas nasales, y si se tiene evidencia de una enfermedad gastrointestinal se recomienda obtener muestras de materia fecal.

En los pacientes con lesiones vesiculares de la piel o membranas mucosas, se requieren muestras del líquido vesicular y frotis faríngeo; en recién nacidos con enfermedades congénitas o neonatales en quienes se sospecha una etiología viral, se colectan muestras de orina, farínge, heces y líquido vesicular.

En algunas ocasiones no es posible efectuar el examen en forma inmediata, por lo que las muestras deben conservarse en un medio que mantenga la actividad del virus, esto puede conseguirse mediante refrigeración, congelación, liofilización, etc., y en algunos casos es necesario mantener los virus en medios de cultivo que mantengan su integridad.

MÉTODOS SEROLÓGICOS DIRECTOS

En general, la histopatología tiene poca aplicación en virología, pues solo permite establecer la etiología de unas cuantas enfermedades. Sin embargo, todavía se recurre a ella para distinguir por ejemplo, la varicela de la viruela, mediante la observación de cuerpos de inclusión intranucleares o citoplásmicos, en frotis de líquido vesicular y raspado outaneco respectivamente, o la búsqueda de cuerpos de inclusión característicos de las infecciones por citomegalovirus en el sedimento urinario.

En este tipo de diagnóstico es recomendable confirmar siempre la presencia del virus mediante su aislamiento o por medio de estudios serológicos.

En el caso de la viruela, tñiendo con Giemsa el material de la lesión, se pueden observar cuerpos de inclusión citoplásmicos y eosinófilos, los cuales se denominan cuerpos de Guarnieri.

Los "corpúsculos de Negri" son acumulos de virus rábico que se observan en el tejido cerebral mediante la tinción de Soller. En el herpes simple las células que se observan son de mayor tamaño, multinucleadas y en sus núcleos se pueden ver los cuerpos de inclusión llamados "Cuerpos de Cowdri", que sirven para diferenciar las células multinucleadas sin cuerpos de inclusión de la varicela-zoster.

En el sarampión, en muestras de secreción nasal, es característico observar la aparición de células multinucleadas gigantes en las que generalmente no se encuentran cuerpos de inclusión, pero en caso de existir estos, son citoplásmicos y se les conoce como células de Warthin-Finkeldey.

Todos estos tipos de células y cuerpos de inclusión característicos de cada infección, se observan al microscopio después de hacer la preparación adecuada de las muestras, de modo que la observación citológica directa no deja de ser un método rápido y eficaz para las infecciones anteriormente mencionadas.

SEROLOGIA

Las pruebas serológicas se usan con fines diagnósticos tanto para identificar y caracterizar un virus aislado, como para detectar los anticuerpos virales en el suero del enfermo. Estas técnicas son las de mayor aplicación y tienen varias ventajas sobre los métodos de aislamiento viral: son en ocasiones más baratas, más rápidas y exactas y sobre todo, pueden brindar información aún cuando no pueda lograrse el aislamiento del agente causal.

El método serológico para el diagnóstico de las enfermedades virales requiere un aumento importante cuando menos de cuatro veces, en el título de anticuerpos específicos, entre la muestra de suero tomada en la fase aguda y el suero de la fase convaleciente. La primera muestra se toma al inicio del padecimiento y la de fase de convalecencia se colecta de una a tres semanas después de iniciado el cuadro clínico, detectandose en ambas muestras el antígeno (en caso de existir viremia) o el anticuerpo correspondiente. En este caso resulta muy útil determinar el tipo de inmunoglobulinas que se encuentren elevadas al inicio del padecimiento ya que en una infección primaria, aparecen en primer lugar las IgM y si se trata de una reinfección se detectarán en el suero IgG. Los principales métodos serológicos que se emplean en el laboratorio para detectar o cuantificar los antígenos o anticuerpos en el

suero problema son : neutralización, fijación del complemento, hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación, hemoadsorción o inhibición de la hemoadsorción, reacciones de precipitación y aglutinación, inmunofluorescencia, radioinmunoensayo, ELISA, ELFA, etc.

NEUTRALIZACIÓN. La reacción de neutralización se basa en el principio de que al reaccionar los virus con sus anticuerpos homólogos se neutraliza su poder infectivo, lo cual puede demostrarse ya sea por inoculaciones en animales o bien en cultivos de células, en los cuales no se observará el daño característico del virus.

La reacción de neutralización es altamente específica. Aunque técnicamente no es difícil de llevar a cabo, se requiere: tener los antisueros o los virus de referencia estandarizados, conocer la cantidad de inóculo adecuada, elegir la vía de inoculación adecuada (en caso de utilizarse animales o -- huevos embrionados), así como el contar con una muestra tomada y conservada en condiciones óptimas, para que la interpretación de los resultados sea correcta. Existen algunas variaciones en la forma de efectuar la prueba de neutralización, que se refieren principalmente a la relación entre los volúmenes de virus y suero, a que las mezclas de virus-suero se incuben o no antes de la inoculación, al tiempo y la temperatura de incubación y finalmente a la elección del método, que pueda ser el de diluciones decrecientes de virus-suero constante, llamado "procedimiento alfa", o bien, diluciones decrecientes de suero-virus constante o "procedimiento beta".

En el procedimiento alfa, el efecto neutralizante se expresa como "Índice de neutralización" y se determina por titulación del virus, calculando la LD_{50} ó $TICD_{50}$.

EJEMPLO: LD_{50} del control = $10^{-6.5}$
 LD_{50} del título de neutralización = $10^{-4.5}$
Índice de Neutralización = $10^{(6.5-4.5)} = 10^2 = 100$
Log del Índice de Neutralización = $\log 100 = 2$

Los índices de neutralización menores de 10 (log menores de 1) no son significativos; valores entre 10 y 50 (logs de 1.0 a 1.6) son cuestionables, y solo los valores arriba de 50 (log de 1.7 o mas) son significativos.

Esta prueba se emplea en el diagnóstico de: meningitis, poliomiélitis, encefalitis, síndromes respiratorios, infecciones de las membranas serosas, sarampión, rubeola y herpes, dentro de las más importantes.

FIJACION DEL COMPLEMENTO. La reacción de fijación del complemento se emplea frecuentemente en los estudios sobre la etiología y epidemiología de las virosis.

Se basa en la "fijación" del complemento, un componente normal termolábil del suero, por los complejos antígeno-anticuerpo.

La reacción se efectúa con base en dos sistemas:

- 1o. El sistema a investigar, formado por el antígeno vírico y el suero problema
- 2o. El sistema hemolítico o indicador, formado por eritrocitos de carnero y suero de conejo anti-eritrocitos de carnero (hemolisina anti-carnero).

El complemento presente en el suero problema debe inactivarse, además - deben titularse la hemolisina, la actividad del complemento y el poder de combinación del antígeno viral, siempre y cuando la prueba se emplee para cuantificar anticuerpos.

La prueba se realiza en dos etapas:

1o. Se dejan reaccionar el suero problema, el complemento y el antígeno a una temperatura previamente establecida.

2o. Se añaden los eritrocitos de carnero sensibilizados con hemolisina - (sistema hemolítico) incubándose nuevamente la mezcla.

Si el suero que se investiga tiene anticuerpos para el antígeno, el complemento se fija al complejo ag-ac en la primera fase, y por lo tanto no podrá actuar sobre el sistema hemolítico, de modo que no se producirá hemólisis. La ausencia de lisis indica una reacción (+), mientras que la lisis indica reacción (-), o sea, que el suero no contenía anticuerpos contra el antígeno empleado, el complemento no se fijó en el primer sistema y participó en el segundo, provocando la lisis de los eritrocitos.

Uno de los principales problemas cuando se trabaja con virus es el contar con los antígenos apropiados, ya que en muchos casos hay que prepararlos a partir de tejidos animales, cultivos celulares o huevos embrionados, además deben emplearse antígenos y sueros testigos como control. Una ventaja de esta reacción es que pueden emplearse tanto los antígenos solubles, así como - las mismas partículas víricas.

Por otro lado en muchas enfermedades víricas, el momento en que aparecen los anticuerpos fijadores del complemento es muy variable, de modo que para diagnosticar la infección viral mediante esta reacción, lo mejor es tomar - muestras del suero en las fases aguda y convaleciente. Las reacciones nega

tivas o debilmente positivas en la fase aguda seguidas de un aumento del título superior a cuatro veces en la fase convaleciente, son significativas para un diagnóstico positivo.

La reacción de fijación del complemento ha sido modificada para dar lugar a reacciones indirectas. Existe también una prueba cuantitativa que se basa en la titulación del complemento de punto final 50% hemolítico y que resulta de utilidad para los trabajos virológicos.

Algunas enfermedades que pueden ser diagnosticadas por este método son la psittacosis, varicela, tracoma, fiebre amarilla, herpes, rubéola, sarampión, poliomielitis, etc.

HEMOAGLUTINACION E INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION. La propiedad que tienen ciertos virus de aglutinar los hematíes y la inhibición específica de éste fenómeno por los anticuerpos correspondientes, constituyen métodos de diagnóstico e investigación sencillos y útiles.

La hemaglutinación se debe a que algunos virus o extractos antigénicos de ellos pueden ser adsorbidos a sitios receptores localizados sobre la superficie de ciertos tipos de eritrocitos.

Los virus que poseen la propiedad hemaglutinante son heterogéneos en cuanto se refiere al tamaño, afinidad histica y especie receptiva. Así, algunos virus son capaces de aglutinar eritrocitos de varias especies animales, mientras que otros solo aglutinan las células rojas de cierta especie, por ejemplo, los enterovirus aglutinan eritrocitos humanos tipo "O", los entomixovirus además aglutinan los de pollo y de cerdo, los togavirus aglutinan eritrocitos de pollo y de cangrejo y los microvirus de rana, Echinus y rata.

Los virus que tienen propiedades hemaglutinantes se pueden clasificar en tres grupos:

1. Aquellos en los que la propia partícula viral es el agente hemaglutinante y posee una enzima (neuraminidasa) que destruye los receptores de los glóbulos rojos, liberándose después (elución). Ejemplo: virus de la influenza.

2. Aquellos en los que las partículas víricas poseen hemaglutininas pero no poseen ninguna enzima que libere al virus de los glóbulos rojos, ni destruya sus receptores, y de los cuales algunos ejemplos son los virus H5N1 y el virus de la encefalomyelitis (virus EMC).

3. Aquellos en los que la hemoaglutinina está asociada a una fracción separable del virus, como es el caso de los virus de la varicela.

Por último cabe señalar que la propiedad hemoaglutinante no va, necesariamente, unida a la infectividad del virus.

La prueba de inhibición de la hemoaglutinación se basa en el principio de que un anticuerpo específico puede bloquear la reacción de hemoaglutinación que ocurre entre los eritrocitos y algunos virus o sus determinantes antigénicos. Esencialmente la aglutinación se inhibe porque el anticuerpo específico reacciona con el virus produciendo un impedimento estérico.

En la práctica se considera como el título de anticuerpos en el suero - a la más alta dilución de un suero que inhibe la hemoaglutinación y una ventaja de ésta técnica es que se puede llevar a cabo como micrométodo, empleando como consecuencia una cantidad mínima de reactivos.

Algunas enfermedades en las que puede demostrarse una respuesta de anticuerpos mediante esta reacción son rubeola, sarampión, infecciones por adeno virus, fiebre amarilla, reovirus, influenza, etc.

Una reacción positiva se presenta cuando los glóbulos rojos se observan uniformemente aglutinados, cubriendo todo el fondo del tubo. La reacción negativa consiste en la formación de un sedimento compacto, en forma de disco y límites muy precisos en el centro del fondo del tubo.

El punto final de la actividad hemoaglutinante del virus, se considera que es la dilución más alta del mismo en la que se produce un resultado positivo, por lo tanto el título del virus, expresado en Unidades Hemoaglutinantes, contenido en la muestra original sin diluir, está dado por el inverso de la dilución final en la cual se observa hemoaglutinación.

La reacción de inhibición de la hemoaglutinación (IH), se emplea con fines diagnósticos pudiendo efectuarse de dos formas: manteniendo la cantidad de suero constante y la de virus decreciente, o bien la cantidad de virus constante y la de suero decreciente.

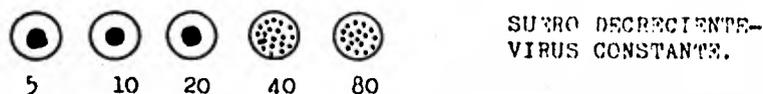
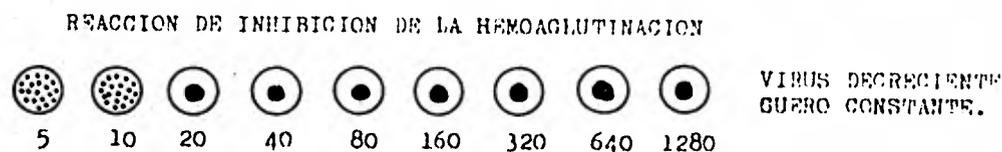
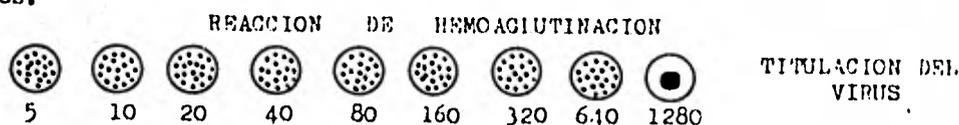
El punto final de la actividad inhibidora de un suero es la dilución - más baja del virus en la que se inhibió completamente la hemoaglutinación. - El título IH del suero se calcula de la siguiente manera.

$$\text{Título IH} = \frac{\text{Punto final del virus} \times \text{dilución del suero}}{\text{Punto final del suero}}$$

En el caso de virus constante-suero decreciente, el punto final de la actividad inhibitora del suero, es la dilución mas alta del mismo en la cual se inhibió completamente la hemoaglutinación.

En las reacciones de IH generalmente es necesario tratar a la muestra problema (suero), para eliminar los inhibidores no especificos que en él se encuentran y para cuyo fin se puede emplear caolín, periodato, tripsina o enzima destructora de los receptores (WPR).

Las muestras deben tomarse tanto de la fase aguda como de la fase convalecencia, para tener la certeza de un aumento significativo en el título de Acs.



HEMOADSORCION E INHIBICION DE LA HEMADSORCION. La adsorción de eritrocitos especificos a cultivos de células infectadas con virus ha dado lugar a un método de diagnóstico práctico para infecciones virales, empleandose principalmente en aquellos casos en los que los virus no ocasionan un daño aparente en las células y no se observa por lo tanto un efecto citopático inmediato. En la reacción, los eritrocitos, que pueden ser humanos tipo "O", de rata, canario, mono Rhesus, de cerdo o de pollo, se añaden al cultivo celular que ha sido previamente infectado con el virus problema. Debido a la alteración de la membrana celular por las proteínas virales, los glóbulos rojos se "pegan" a las células, observándose como aglutinos de eritrocitos cuando se examinan al microscopio.

Por otro lado, empleando un anticuerpo viral específico, la reacción puede ser inhibida porque el anticuerpo se une al virus, bloquea la infección y por lo tanto impide la adsorción de los eritrocitos, conociéndose a este fenómeno como "inhibición de la hemolisorción".

PRECIPITACION Y AGLUTINACION. Los términos de precipitación y aglutinación se aplican a reacciones serológicas en las que se produce una modificación en el estado de dispersión del antígeno. La diferencia entre ambas reacciones, estriba principalmente en las dimensiones del antígeno. Cuando se encuentra en solución (dispersión molecular) se habla de precipitación para designar así a la aglomeración de partículas antigénicas provocada por el anticuerpo. Cuando el antígeno tiene tamaño suficiente para sedimentarse mediante centrifugación o permitir su observación con el microscopio óptico, por la formación de agregados de partículas antigénicas a que da lugar el anticuerpo, se llama aglutinación. En ambos casos, la reacción específica es el resultado de la unión del Ag con el Ac, seguida de la insolubilización del complejo Ag-Ac.

Por lo que respecta a los virus, acaso sea más adecuado hablar de floculación, reservando el término aglutinación para algunos de los virus más grandes, como en el caso de los virus de la viruela.

Las reacciones de precipitación pueden efectuarse siguiendo varios métodos, si bien el principio es siempre el mismo, es decir, la combinación del antígeno con su anticuerpo correspondiente en presencia de electrolitos y en condiciones óptimas de temperatura. Debido a su sencillez y sensibilidad, las técnicas de precipitación más empleadas son: difusión simple en agar, difusión doble en agar (método de Cuchtericny), inmunodifusión radial (RID), precipitación en tubo e inmunoelectroforesis.

Todas estas técnicas son modificación del mismo principio, así, en la inmunodifusión radial, el anticuerpo se mezcla con el agar, posteriormente se coloca el antígeno correspondiente en un pozo practicado al centro del agar y se deja difundir el sistema por aproximadamente 24 horas; al cabo de éste tiempo, se formará un anillo de precipitado en la zona de equivalencia del antígeno y el anticuerpo. La inmunoelectroforesis es una técnica que combina la separación de los anticuerpos por electroforesis y su posterior precipitación con su antígeno correspondiente.

En el método de Cuchterlony, además del pozo central en el que se deposita el antígeno, existen varios pozos que pueden contener diferentes anticuerpos (sueros) alrededor del pozo central; cuando existe una relación antigénica se forman líneas características de precipitado alrededor de los pozos. La ventaja de éste método reside en que permite comparar diferentes soluciones antigénicas o sueros inmunes en la misma placa.

INMUNOFLUORESCENCIA. Uno de los métodos más rápidos y específicos es la técnica de anticuerpos fluorescentes, que se basa en el hecho de que pueden unirse a las globulinas (anticuerpos), grupos prostéticos fácilmente reconocibles (colorantes). La combinación de los antígenos con los anticuerpos homólogos, que han sido conjugados o marcados con un colorante fluorescente — (por ejemplo isotiocianato de fluoresceína), se hace visible al microscopio de luz ultravioleta.

Existen los variantes de ésta técnica: la inmunofluorescencia directa y la inmunofluorescencia indirecta. En la primera los anticuerpos específicos para el virus, se marcan con fluoresceína y se hacen reaccionar con el antígeno (tinción directa), presentándose los complejos Ag-Ac, bajo el microscopio de luz ultravioleta, como puntos fluorescentes brillantes. En el sistema de la inmunofluorescencia indirecta, primero se mezclan el Ag y el Ac no marcado y posteriormente se aplica la antiglobulina conjugada con fluoresceína, de modo que se combina con el complejo previamente formado por el Ag y el Ac.

La ventaja del primer método es que es más simple y se realiza en una sola etapa, sin embargo aunque en el método indirecto es necesario efectuar dos etapas, es mucho más sensible y tiene la ventaja de emplear un solo reactivo marcado, que puede aprovecharse contra todos los sueros antivirales específicos, siempre y cuando se hallan preparados en el mismo animal.

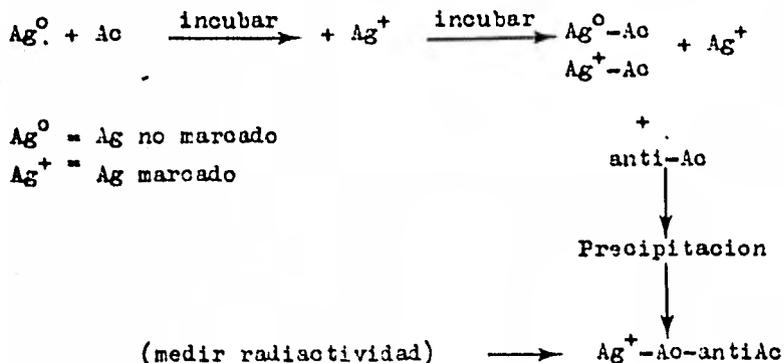
En la actualidad, se utiliza con frecuencia la inmunofluorescencia en el diagnóstico de la rabia, también se usa para el diagnóstico rápido de la influenza y de las infecciones por virus sincicial respiratorio y rubéola. Merece mención especial, la aplicación de este método al diagnóstico de las infecciones herpéticas oculares y de la encefalitis por virus del herpes, — pues existen reportes en el sentido de que la terapéutica con 5-Isotioisoxanridina es eficaz en los casos si se inicia poco después de la aparición de los síntomas.

RADIOINMUNOENSAYO. Esta técnica combina la especificidad inmunológica - con la sensibilidad de la radioquímica y permite determinar cualquier sustancia que se comporte como antígeno en concentraciones de alrededor de 10 - pg/ml.

El método se basa en la competencia establecida entre un Ac marcado radiactivamente (generalmente con I^{121} ó I^{135}) y el Ag no marcado cuya concentración se desconoce, por unirse a un Ac específico; cuanto mayor sea la concentración del Ag no marcado, mas baja será la relación entre el Ag marcado unido al anticuerpo y el antígeno marcado libre. Esta relación se determina midiendo la radiactividad del complejo Ac-Ag⁺ marcado, en un contador gamma, para cuyo fin es necesario separar a dicho complejo de la solución en la que se encuentra junto con el Ag⁺ libre, mediante cromatografía en Sephadex, electroforesis, precipitación con sales o con un anti-anticuerpo.

Para llevar a cabo la técnica se requieren ciertas condiciones como son: que el reactivo usado para marcar sea puro y que la cantidad del isótopo incorporado sea baja, de modo que no altere la especificidad serológica.

La reacción se lleva a cabo en el siguiente orden:



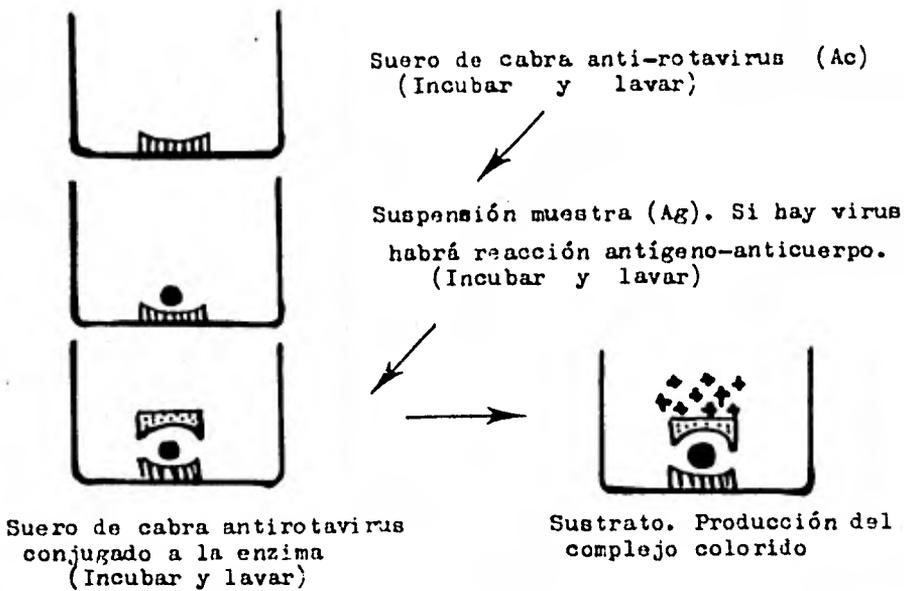
Una vez medida la radiactividad, se determina la relación Ac-Ag⁺/Ag⁺, de éste modo y con el uso de una curva, podemos conocer la concentración del antígeno no marcado.

El radioinmunoensayo requiere para su ejecución de reactivos de una vida media corta, que junto con el contador de centelleo o gamma, resultan demasiado costosos, siendo esta una limitación para su uso en el laboratorio diagnóstico.

ELISA (ENSAYO INMUNOSCRIBENTE ENZIMA-CONJUGADA). Recientemente se ha desarrollado una técnica inmunoenzimática para el diagnóstico viral y cuyo fundamento es el siguiente: Las proteínas (anticuerpos) en condiciones apropiadas de pH, se adhieren a una superficie de polivinilo. Sobre la proteína adsorbida se lleva a cabo una reacción Ag-Ac y a éste complejo se le añade un reactivo consistente en un conjugado de inmunoglobulina-enzima (fosfatasa alcalina o peroxidasa). El conjugado tiene una gran afinidad por su antígeno homólogo, así como una gran actividad enzimática.

Una vez que el conjugado ha reaccionado con su antígeno, se adiciona un sustrato apropiado cuya hidrólisis por la enzima, genera un color fácil de distinguir visualmente y cuantificable espectrofotométricamente.

Diagrama esquemático del ELISA para la detección de virus:

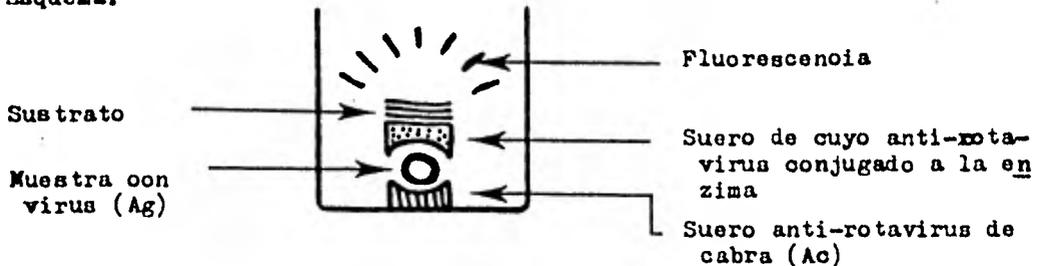


El método de ELISA se realiza actualmente para el diagnóstico de rotavirus, poliovirus, virus de la rubeola, etc. y se ha comprobado su eficacia comparándolo con el radioinmunoensayo y la microscopía electrónica, junto a los cuales resulta de más bajo costo.

ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay). Este método se puede considerar una modificación del método de ELISA, se basa en el mismo principio, solo que en éste caso se usa un sustrato que al ser hidrolizado por la enzima produce un compuesto fluorescente. Dicho sustrato, en el caso de emplear fosfatasa alcalina, es el 4-metilumbeliferilfosfato.

Puesto que en ELISA la sensibilidad del sistema está limitada a la detección del color que se produce al ser hidrolizado el sustrato (ya sea visualmente o con un colorímetro), ELFA resulta un método 100 veces más sensible, ya que el producto fluorescente se puede detectar en mucho más bajas concentraciones que un producto colorido.

Esquema:



ELFA se ha empleado con éxito para la detección de rotavirus en heces, citomegalovirus, virus de la hepatitis A, etc. (Yolken R.H. 1979).

MÉTODOS PARA CUANTIFICAR LA INFECTIVIDAD VIRAL

El empleo de técnicas cuantitativas estandarizadas que nos permitan obtener resultados confiables y reproducibles por los diferentes métodos que se emplean tanto en la identificación, como en la purificación y la cuantificación de la infectividad viral, se ha hecho muy necesario, ya que la determinación de la capacidad infecciosa resulta de primordial importancia en la preparación de vacunas, sueros hiperinmunes, en estudios de infectividad, etc.

Para interpretar correctamente los estudios cuantitativos de los virus animales, se requiere primero de una "titulación" de los mismos, y tener en cuenta el tipo de "dosis-respuesta" utilizado, el cual puede ser: Cuantitativo, Enumerativo o De Gradación.

La actividad viral se mide determinando la cantidad de virus necesaria para obtener una respuesta específica en el sistema indicado que se emplee,-

ya sean animales, huevos embrionados, cultivos celulares, etc. A la determinación cuantitativa de la actividad vírica, se le llama Titulación.

En la titulación de un virus determinamos la menor cantidad de una suspensión o lisado vírico capaz de producir una manifestación reconocible en un huésped apropiado. La menor cantidad de un virus capaz de producir una reacción se denomina "Unidad Infecciosa" (UI) y el título de la suspensión original se expresa como el número de UI por unidad de volumen.

En general, los procesos de titulación requieren métodos por los cuales pueda registrarse la inoculación como positiva (+), o negativa (-), por ejemplo, la presencia o ausencia de efecto citopático, reacciones inflamatorias en un lugar de la piel, o síntomas de parálisis después de una inoculación cerebral, formación de placas en un cultivo o de pústulas en la membrana corioalantoidea de un embrión de pollo.

DOSIS-RESPUESTA ENUMERATIVA.

METODO DE LA PLACA. Las respuestas enumerativas se valoran teniendo en cuenta el número de lesiones que se observan por el método de la placa, el cual es fundamental en Virología básica, y tiene gran importancia para fines diagnósticos, combinándose en él simplicidad, exactitud y alta reproducibilidad. En éste método se emplean capas unicelulares a las que se les infecta con una suspensión viral y después de un tiempo de contacto, se vierte sobre la mezcla, agar nutritivo blando o metil celulosa; las placas se desarrollan dependiendo del virus inoculado, después de un día a 3 semanas de incubación.

El número promedio de lesiones focales es una función lineal de la cantidad de virus presente en el inóculo. La ventaja de éste método es que cada lesión es producida solo por virus vivos y por lo tanto, mide unidades "reales" de virus. Los recuentos de las placas o lesiones focales, siguen una curva lineal con una pendiente uniforme y pueden ser representadas mediante distribución de Poisson calculando la media de las placas formadas por dilución según la fórmula:

$$m = \frac{N}{dr}$$

N = # total de las placas formadas.

r = # de recuentos en una dilución

d = dilución

m = media.

DOSIS-RESPUESTA CUANTITATIVA.

METODO DE DILUCIONES EXTREMAS. Algunos virus animales, no se pueden titular en monocapas celulares, de modo que para ellos los únicos procedimientos adecuados son los métodos de "Titulación por Dilución Extrema" o de "Punto Final". Este método cuantitativo se basa en la respuesta de tipo "todo o nada", que se entiende como la razón entre el número de respuestas positivas y el número total de respuestas posibles. En éste método se inoculan muestras de diluciones sucesivas del virus, en animales o en cultivos celulares apropiados y se determina la dilución extrema o final, teniendo en cuenta las respuestas positivas y negativas. El título en UI/ml., se calcula considerando que la última dilución positiva contiene al menos una UI; se usan diluciones seriadas de 10, lógicamente cuanto menor sea el factor de dilución, más preciso será el título obtenido.

En éstas titulaciones, siempre existe una zona incierta en la que una dilución dada puede dar un resultado negativo, mientras que una muestra más diluida da un resultado positivo. Estas variaciones reflejan el hecho de que las unidades infecciosas consisten frecuentemente en una sola partícula de virus activa, que por azar, puede estar ausente en una muestra y presente en otra más diluida.

Las titulaciones por dilución extrema son más acertadas cuando se prueban varias muestras de cada dilución. Alrededor del punto extremo o final, una o más diluciones darán respuestas negativas y positivas a la vez.

Una práctica común es estimar por extrapolación la dilución que daría el 50% de respuestas negativas y el 50% de positivas y expresar los títulos en múltiplos de dosis infectiva al 50% ó DI_{50} .

En la titulación de virus y sueros antivíricos se calculan los puntos finales de 50% (DI_{50} , DL_{50} , $DICT_{50}$, etc.) de acuerdo a los métodos de Reed-Muench y Kaerber.

a. Método de Reed-Muench. El término DI_{50} indica la dosis que infecta al 50 % de los animales o embriones inoculados, en tanto que la DL_{50} indica la dosis que mata al 50% de ellos; otra forma de expresar esto es la $DITC_{50}$, o sea la dosis que produce cambios citopáticos en el 50% de los cultivos inoculados.

El método de Reed-Muench para calcular la DL_{50} se lleva a cabo por ejemplo de la siguiente manera:

Valores de Mortalidad animal

Dilución del virus	Mortalidad	muertes	sobrevivientes
10^{-1}	10/10	10	0
10^{-2}	10/10	10	0
10^{-3}	9/10	9	1
10^{-4}	4/10	4	6
10^{-5}	0/10	0	10

Las flechas indican la dirección en que debe hacerse la suma para obtener los valores acumulativos.

Valores acumulativos de los datos de mortalidad

Dilución del virus	muertes	sobrevivientes	relación	mortalidad por ciento
10^{-1}	33	0	33/33	100
10^{-2}	23	0	23/23	100
10^{-3}	13	1	13/14	92.85
10^{-4}	4	7	4/11	36.36
10^{-5}	0	17	0/17	0

La distancia proporcional entre las dos diluciones (en el ejemplo entre 10^{-3} y 10^{-4}) en la cual se encuentra el punto final de 50% se obtiene:

$$\frac{\% \text{ mortalidad mayor de } 50\% - 50\%}{\% \text{ mortalidad mayor de } 50\% - \% \text{ mortalidad menor de } 50\%} = \frac{92.85 - 50}{92.85 - 36.36} = \frac{42.85}{56.49} = 0.75$$

$$\text{Log negativo del título } DL_{50} = \text{Log negativo de la dilución mayor al } 50\% \text{ de mortalidad} + \text{la distancia proporcional}$$

$$\text{Log negativo} = 3.0 + 0.75 = 3.75$$

$$\text{Título } DL_{50} = 10^{-3.75}$$

Se emplea el mismo procedimiento para calcular los valores de $DITC_{50}$.

En los cálculos para el caso de los cultivos celulares, la relación de mortalidad, esta reemplazada por la relación citopatógena que es el número de cultivos que muestran cambios citopáticos en relación con el número de cultivos inoculados.

b. Método de Kaerber.

$\text{Log DL}_{50} = 0.5 + \text{Log de la mayor conc. de virus empleada} - \frac{\text{Suma del \% de animales muertos}}{100}$

Para el ejemplo que se mostró anteriormente:

$$\begin{aligned}\text{Log título DL}_{50} &= 0.5 + (-1) - (100+100+92.85+36.36)/100 \\ &= 0.5 - 1 - 3.29\end{aligned}$$

$$= -3.7$$

$$\text{Título DL}_{50} = 10^{-3.7}$$

El mismo método se sigue para calcular la DITC_{50} , solo que sumando los porcentajes de cultivos que muestran cambios citopáticos en lugar de animales muertos.

En algunos casos, la DL es igual a la DI, esto ocurre cuando la infección se manifiesta por mortalidad. En otras ocasiones no coinciden la dosis letal y la dosis infectiva y es necesario emplear otros criterios para interpretar la respuesta infectiva. Por ejemplo algunos virus no producen de modo uniforme la muerte del embrión de pollo, entonces se toman en cuenta otros datos, como deformación y enanismo del embrión, depósitos de uratos en los riñones, etc.

Si no se consideran todos estos criterios, las diferencias obtenidas en la titulación de algunos virus, pueden ser tan amplias que no es posible la interpretación de los resultados.

DOSIS RESPUESTA "DE GRADACION". Para evitar la necesidad de un gran número de animales huésped, se han ideado otros procedimientos de titulación, como el método del periodo de incubación, que se basa en el hecho de que a menudo existe una relación bastante precisa entre la cantidad de virus inoculado y el tiempo de incubación que transcurre entre la inoculación y la aparición de un síntoma dado. Por ejemplo, con el virus del papiloma del conejo, el intervalo (t) entre la inoculación en la piel del conejo y la aparición de papilomas, se relaciona con la concentración (C) del inóculo según la relación:

$$t_2 - t_1 = b (\log C_1 - C_2)$$

La representación gráfica de t en función de log C da una línea recta, de forma que las muestras desconocidas, se pueden titular con referencia a una gráfica estandar.

En todas las titulaciones de virus animales, los títulos obtenidos dependen no solo de la cantidad de virus, sino también de la vía de inoculación, del huésped o sistema empleado, y de otros muchos factores que deberían estandarizarse si se quieren comparar los resultados.

En animales intactos, toda clase de defensas del huésped, mecánicas, humorales y celulares tienden a reducir las probabilidades de infección efectiva. De forma similar, las condiciones de cultivo pueden afectar la producción de placas in vitro. Los títulos por consiguiente, indican el número de unidades infecciosas, bajo las condiciones específicas de la prueba.

BIBLIOGRAFIA

Cunningham C.H.: Virología Práctica. Ed. Acribia, España (1971).

Forghani B. et. al.: Sensitivity of a radioimmunoassay method for detection of certain viral antibodies in sera and LCR. J. Clin. Microbiol. (6): 470-478 (1976).

Forghani B. and N. Schmidt: Humoral immune to virions and dense bodies of human cytomegalovirus determined by enzyme immunofluorescence assay. J. of Med. Virol. 6: 119-127 (1980).

Hazlett D.T.: A sensitive new immunoabsorbent technique for the detection of antibodies to an animal virus. Immunochemistry 14(6): 473-476 (1977).

Hsiung G.D.: Laboratory diagnosis of viral infections: general principles - and recent developments. Mt. Sinai J. Med. N.Y. 44(1): 1-26 (1977).

Gardner P.S.: Virus diagnostic procedures in clinical virology. Experientia 33(12): 1674-1676 (1977).

Kuchler R.G.: Biochemical methods in cell culture and Virology. Dowden, Hutchinson Ross, Inc. USA (1977).

Lennette E.H.: Laboratory diagnosis of viral infections. Amer. J. Clin. Path. 57: 737 (1972).

MacIntoshik: Summary of a work shop on new useful methods in viral diagnosis. J. Infect. Dis. 138(3): 414-419 (1978).

Sarovi I., Andersen : Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for determination of IgG antibodies to human cytomegalovirus. Acta Path. Microbiol. Scand. 88: 1-9, (1980).

Simhon A., Amato S. and Hernández F.: Diagnóstico de rotavirus por microscopía electrónica y el ensayo inmunosorbente enzima conjugada (ELISA). Bol. of Sanit. Panam. 86(5): 391-396 (1979).

Yolken R.H. and Stopa P.: Enzyme-linked fluorescence assay: Ultrasensitive solid-phase assay for detection of human rotavirus. J. of Clin. Microbiol. 10(3): 317-321 (1979).

CAPITULO V . TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN. .

QUIMIOTERAPIA.

La quimioterapia, junto con la inmunología (aplicación de vacunas y sueros) y el empleo del interferón, forma parte de las tres posibilidades que existen en la lucha contra las infecciones virales, y se inició a raíz de los grandes éxitos de la quimioterapia bacteriana, lo cual impulsó la búsqueda de fármacos similares en el caso de las enfermedades víricas.

La mayor esperanza en cuanto a la terapéutica viral, es la creación de fármacos que puedan bloquear de manera selectiva la síntesis del virus, reducir los daños tisulares y aumentar la resistencia del huésped, o sea, que el fármaco antiviral ideal, sería aquel que inhibiese la replicación viral sin lesionar la célula huésped. Otro posible enfoque terapéutico consistiría en contrarrestar la patogenia viral más que al propio virus, y por otro lado, puesto que la patogenia de ciertas infecciones víricas, como los exantemas, se basa parcialmente en una hipersensibilización específica, serían de esperarse ciertos beneficios de los fármacos antiinflamatorios. (Whitley and Alford, 1978).

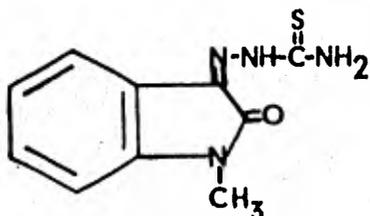
La búsqueda de fármacos antivirales útiles, resulta difícil por la relación entre los virus y la biosíntesis celular y también por el hecho de que generalmente la replicación viral se ha efectuado totalmente cuando se ponen de manifiesto los primeros síntomas, además de la posible aparición de mutantes resistentes. Aún así, existen algunos compuestos con comprobada actividad antiviral entre los que mencionaremos los siguientes:

TIOSEMICARBAZONAS. Inicialmente el único efecto que se conocía de este compuesto era su actividad tuberculostática. Más tarde se vió que la metil-isatin- β -tiosemicarbazona (Metisazona), administrada a ratones infectados por vía oral o subcutánea, inhibía eficazmente la multiplicación de los porvirus.

Este fármaco actúa bloqueando la traducción del ARN_v viral para la síntesis de proteínas de la cápside (proteínas tardías), lo cual impide la maduración.

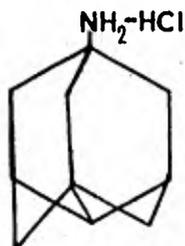
La metisazona, aunque se ha comprobado su efecto profilático para reducir la frecuencia de la viruela en personas que habían estado en contacto con enfermos, no resulta muy útil como agente antiviral en aquellos casos en los que ya se ha contraído la enfermedad, además de que aproximadamente en el

50% de los individuos produce vómito.



Metisazona

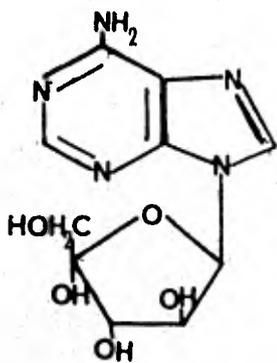
AMANTADINA. Este compuesto, que es una amina sintética primaria, inhibe la multiplicación de diversos virus, entre los que se incluyen el virus tipo A2 de la influenza y el de la rubeola. Al parecer la amantadina (Symmetrel) interfiere en las primeras fases de la interacción virus-célula después de su adsorción, afectando la liberación de ácido nucléico viral en el interior de la célula. Se ha demostrado que la administración de Symmetrel a razón de 200 mg al día, disminuye en un 50% la frecuencia de la influenza clínica, natural o experimental, en adultos jóvenes; así mismo en pacientes de mayor edad, el Symmetrel provoca solo una toxicidad mínima. A pesar de esto, el fármaco resulta solo profiláctico (sobre todo para reducir la frecuencia de neumonías mortales en individuos debilitados) y carece de eficacia en el tratamiento de la influenza clínica.



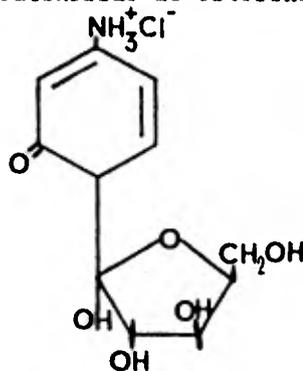
Symmetrel

ARABINOSIDO DE CITOSINA. Este fármaco es un nucleósido de pirimidina, que se incluye junto con la 5IdU dentro de aquellos agentes no selectivos que interfieren en la síntesis de ADN, de modo que resultan sensibles los virus como los del herpes y la vacinia, cuyo genoma es de ADN, así como el virus del sarcoma de Rous, con genoma de ARN. El mecanismo probablemente incluye la inhibición de la reducción del difosfato de citidina a difosfato de desoxicitidina. Un nuevo fármaco antiviral experimental, que parece ejercer un efecto terapéutico contra la encefalitis causada por el virus del herpes en animales, es el arabinósido de Adenina (Ara-A), que es administrado por vía subcutánea,

se desamina rápidamente dando arabinósido de hipoxantina, el cual conserva gran parte de su actividad biológica, a diferencia del arabinósido de uracilo, que es producto final del metabolismo del arabinósido de citosina (Ara-C).



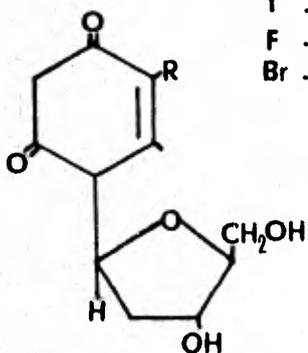
Ara-A



Ara-C

5-IODODESOXIURIDINA 5IdU. Como el nombre lo indica la 5IdU es un derivado halogenado de la desoxiuridina. Puesto que constituye un análogo del nucleósido de uracilo, el fármaco puede ser captado por las células e incorporarse al ADN viral de nueva síntesis produciendo un ADN anormal o no infectante, que da lugar a la síntesis de proteínas no funcionales.

R = CH₃ - Timidina
 I - 5IdU
 F - 5FdU
 Br - 5BrdU

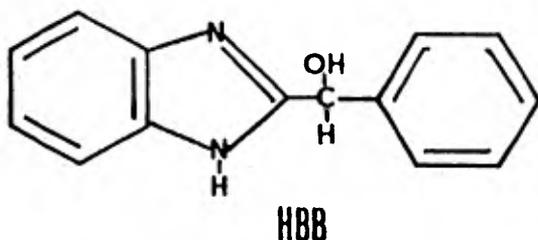


La 5IdU resulta especialmente útil por su acción inhibitoria sobre el virus del herpes simple, que provoca queratitis, y sobre el virus de la vaccinia a nivel de lesiones superficiales. Su aplicación debe ser solamente tópica, puesto que no es un agente selectivo y actúa también sobre el ADN de la célula huésped. Su administración sistemática puede ocasionar cambios neoplásicos, esterilidad o mutaciones genéticas graves.

CARBOXIPEPTIDOS. Ciertos carboxipeptidos (como la carboxi-D-fenil-alanil-L-arginina) impiden, al parecer, la penetración vírica dentro de la célula y resultan potentes inhibidores de la replicación del virus del sarampión (un paramixovirus) en cultivos celulares.

BENCIMIDAZOL Y GUANIDINA SUSTITUIDOS. El bencimidazol (2-~~q~~-hidroxiben-
cil bencimidazol o HBB) inhibe la multiplicación de ciertos enterovirus (virus
ECHO y Coxsackie), lo mismo que la guanidina, que se aplica a aquellos virus
que no son sensibles al HBB.

Estos compuestos interfieren con la síntesis del ADN vírico monocatenario, sin afectar la síntesis del ARN celular. Al parecer, la guanidina actúa sobre una proteína estructural que interviene en la replicación del ARN; además ya que existen mutaciones st que afectan a genes que codifican para la proteína vírica, se aumenta la sensibilidad a la guanidina. A pesar de su gran efecto in vitro, ni el HBB ni la guanidina se han podido emplear como quimioterápicos en los animales, debido a la rápida aparición de mutantes resistentes.



RIFAMPIN. Este antibiótico, junto con otros derivados de la rifamicina y la estreptovaricina, posee actividad antivírica frente a los poxvirus y leucovirus. En los leucovirus inhibe la actividad de la transcriptasa inversa y en los poxvirus interfiere en la maduración viral, evitando que las cápsides o membranas víricas se completen. In vivo produce ciertos efectos locales y su elevada toxicidad impide su uso en dosis adecuadas que sean efectivas para el hombre.

EMPLEO Y PREPARACION DE VACUNAS Y SUEROS HIPERINMUNES.

Mucho antes de que el hombre tuviera conocimiento de la naturaleza de los virus, ya había logrado algunos avances considerables en la inmunización profiláctica, al menos contra una enfermedad viral: la viruela. En el siglo XVII, Edward Jenner advirtió que al infectar intencionalmente a un individuo

con pus procedente de las úlceras de viruela del ganado, se adquiría una protección duradera contra la enfermedad.

De la observación de Jenner proviene el uso de las vacunas y desde entonces, ha constituido un arma excelente contra muchas enfermedades virales.

Aun cuando la palabra "vacuna" se originó de la inmunización que Jenner realizó con el virus de la viruela (vaccinia), se aplicó después éste término a cualquier producto biológico preparado a partir de microorganismos y eficaz en la prevención de enfermedades.

EMPLEO DE VACUNAS. Las vacunas son capaces de estimular la producción de anticuerpos en un individuo (inmunización activa). La eficacia de una vacuna se mide por el grado de protección que se adquiere después de la administración de la vacuna, y se establece por estudios seroepidemiológicos sobre poblaciones vacunadas y no vacunadas, expuestas al mismo riesgo. Una vacuna puede conferir diferentes niveles de protección: puede evitar la infección y la enfermedad, puede impedir la enfermedad clínica pero no evitar la infección, puede disminuir la gravedad del cuadro clínico, puede abatir la frecuencia de las complicaciones graves o bien disminuir las oportunidades de contagio.

Las vacunas víricas pueden ser de dos tipos: las de virus vivos atenuados y las de virus muertos o inactivados. La atenuación en el primer caso, se lleva a cabo induciendo mutantes sensibles a la temperatura (ts), o bien mediante resiembras sucesivas del virus silvestre en huevos embrionados o cultivos celulares. En las vacunas de virus muertos, la inactivación se logra mediante tratamiento con formaldehído, betapropiolactona, etc.

Las principales ventajas de las vacunas de virus vivos son que generalmente proporcionan una inmunidad duradera, y el hecho de que el número de virus que se halla en una dosis es inferior al de una vacuna inactivada, por lo tanto el costo de la vacuna resulta mucho menor, por ejemplo, la vacuna inactivada de la poliomiélitis de Salk contiene 10 000 veces más virus que la atenuada de Sabin.

Las vacunas de virus vivos se recomiendan en especial, cuando existen pocas variedades antigénicas del virus, cuando se produce la invasión sistémica del huésped o cuando la infección natural va seguida de una inmunidad duradera y eficaz; tal es el caso del sarampión, de la parotiditis, rubeola, fiebre amarilla y de la poliomiélitis.

En las vacunas de virus vivos, la atenuación debe regularse con mucho cuidado, ya que en el hombre, debido a la hipersensibilidad que presentan - algunos individuos se pueden producir infecciones clínicas manifiestas, por ejemplo con las vacunas contra la fiebre amarilla y la viruela; por otro lado un punto de gran importancia en la aplicación de vacunas atenuadas, es tener en cuenta el fenómeno de interferencia viral, ejercido por una infección viral previa y que puede impedir una respuesta inmunitaria satisfactoria.

Por otra parte, las vacunas de virus inactivados o muertos ofrecen las siguientes ventajas: se controlan mas facilmente que las vacunas de virus vivos en cuanto a eficacia y seguridad, y pueden combinarse con otros antígenos, como toxoides y vacunas bacterianas para producir vacunas antigénicas múltiples. Este tipo de vacunas suelen evitar satisfactoriamente aquellas enfermedades producidas por virus con diferentes tipos antigénicos, o caracterizadas por una infección superficial, y en las cuales la inmunidad natural es poco duradera.

Otro factor importante en la aplicación de vacunas, es el que se refiere al estado inmunológico y capacidad de reacción del individuo, siendo el caso más evidente, la falta de madurez inmunológica del recién nacido, y - los casos clínicos que se acompañan de deficiencias fisiológicas e inmunológicas, en los que la eficacia de la vacuna resulta disminuída.

ADMINISTRACION DE VACUNAS. La aplicación de vacunas, aparte de aquellas enfermedades en donde hay necesidad de ofrecer inmunización (difteria, tétanos, tosferina, poliomiélitis, sarampión y tuberculosis) está indicada en - los individuos: poco protegidos, muy expuestos a un agente patógeno dado, ya sea por cuestiones de trabajo o factores ambientales, y en aquellos con mayor riesgo de enfermedad o complicaciones. Algunos ejemplos de estos tres casos son: niños leucémicos, sujetos inmunosuprimidos, veterinarios, espeleólogos, reclutas militares, personal del sector salud, preescolares y viajeros, etc.

Respecto a la vía de administración, la mayor parte de las vacunas se aplican por vía parenteral, independientemente de la vía de entrada, exceptuando la vacuna Sabin contra la poliomiélitis que se administra por vía oral, - lo que coincide con la vía de entrada natural del virus; otra vía comúnmente utilizada es la intradérmica.

Por otro lado, la dosis de vacuna administrada varía mucho dependiendo del tipo de vacuna que se trate. Las de virus viables requieren generalmente de una sola dosis; los refuerzos se aplican en caso de virus relacionados antigenicamente, tal como sucede cuando el virus debe competir con otros existentes en el mismo sistema, por ejemplo, los poliovirus administrados por vía oral y los enterovirus (ECHO y Coxsackie) presentes en el tubo digestivo. En otras ocasiones, los anticuerpos de origen materno pueden bloquear el estímulo adecuado, haciéndose necesario entonces, aplicar una segunda dosis de vacuna, como por ejemplo en el caso del sarampión cuando la vacuna se aplica inadecuadamente antes de los 9 meses de vida.

Las vacunas que requieren de dosis única son la vacuna antivariólica, - la de la rubeola, parotiditis, fiebre amarilla, sarampión e idealmente la antipoliomielítica, cuando se aplique la vacuna trivalente.

En el caso de antígenos inactivados como la vacuna antipolio de Salk, o cuando se precisa de refuerzos con objeto de mantener un nivel satisfactorio de inmunidad se aplican tres dosis.

Por último, en la profilaxis de la rabia con las vacunas de Fuenzalida y de embrión de pato, se aplican 14 dosis. La aplicación de dosis múltiples se debe a la escasa potencia inmunológica de la vacuna, aunque en el caso de la rabia existe actualmente una vacuna obtenida en células diploides humanas de la que bastan tres aplicaciones.

ELABORACION DE VACUNAS. Los métodos para propagar las cepas virales empleadas en la preparación de vacunas de virus vivos atenuados o muertos, son similares y tienen como objetivo obtener grandes cantidades del virus, lo más económicamente posible y en condiciones óptimas de esterilidad bacteriana, micótica y de micoplasmas. La vacuna puede obtenerse a partir de líquidos de cultivos celulares, lesiones cutáneas, homogenizados de tejidos, de embrión de pollo, etc.

Las etapas siguientes son la atenuación o la inactivación, que representan una fase muy crítica en la preparación de las vacunas, ya que si estas no son suficientes, la vacunación puede ser peligrosa y si son excesivas, resulta ineficaz.

Antes que una vacuna se lance al mercado deben someterse a una serie de - pruebas de seguridad aprobadas por los laboratorios de control oficiales de la

OMS y la OPS, quienes establecen las normas por medio de las cuales una vacuna puede aplicarse a una población determinada.

Es obligada la prueba de esterilidad bacteriana y micótica, para todas las vacunas. Otra norma es la prueba de seguridad general, que se realiza mediante la inyección de una gran dosis, equivalente a varias dosis humanas, a ratones o cobayos y por observación de la aparición de síntomas en los animales durante el tiempo necesario según el virus de que se trate. Esta prueba sirve también para detectar los errores de fabricación, tales como la contaminación accidental con alguna sustancia tóxica, presencia de pirógenos, etc. Los animales también se utilizan para las pruebas de inocuidad y potencia del producto terminado.

Puesto que todas las vacunas víricas se han desarrollado en animales, - huevos embrionados o cultivos celulares, debe tenerse cuidado en evitar contaminación por bacterias y virus que pudieran hallarse en estos medios de cultivo. Así, el ganado utilizado debe ser tuberculino negativo, los huevos embrionados empleados para la vacuna atenuada del sarampión deben estar libres de la leucosis aviar, los cultivos celulares de riñón de mono, empleados para la elaboración de las vacunas antipolio y otras, deben estar libres de Mycobacterium tuberculosis, virus B y SV40.

CONSERVACION Y ALMACENAMIENTO. Todas las vacunas son sensibles a la degradación estructural (en caso de virus inactivados) y a la pérdida de viabilidad e infectividad en los casos de virus atenuados. Estas posibilidades, - que provocan una pérdida de inmunogenicidad, son más factibles cuando no se guardan las condiciones óptimas de almacenamiento térmico; o bien cuando las vacunas alcanzan su periodo de caducidad.

Las vacunas de virus atenuados (sarampión, poliomielitis, etc.) pueden almacenarse a -20°C durante dos años, y deben transportarse congeladas también a 20°C ; en los depósitos para su distribución pueden conservarse hasta treinta días entre 2°C y 10°C y en los equipos de aplicación hasta una semana entre cuatro y 8°C . Las vacunas que contienen estabilizadores (como MgCl_2) pueden conservarse más de 30 días, pero aún con esto deben evitarse las congelaciones y descongelaciones repetidas. La vacuna del sarampión es probablemente la más sensible a los cambios de temperatura, el diluyente debe mezclarse en frío y una vez diluida, el tiempo de vigencia no pasa de pocas horas.

RIESCOS DE LA VACUNACION. Toda inmunización con lleva riesgos cuya magnitud y frecuencia son muy diversos según se trate de inmunógenos viables o inactivados. Es natural que se acepten riesgos en razón inversa a la gravedad de la enfermedad que se quiere evitar, así por ejemplo, el que la rabia sea letal en el 100% de los casos justificó la postura de Pasteur respecto al empleo de su vacuna con virus vivos, hasta que no se encontró una alternativa mejor. Por el contrario, la vacuna contra el catarro común, deberá ser de aplicación tópica (no sería recomendable administrarla por vía intramuscular) y sin asomo de efectos adversos por muy leves que fueran.

Los siguientes son algunos de los riesgos que pueden ocasionarse por la administración de vacunas:

La vacuna de la fiebre amarilla cepa 17D de la OMS se cuenta como una de las más seguras; se ha reportado un caso de muerte (encefalitis en un niño de tres años) en más de 34 millones de dosis administradas en 25 años en todo el mundo.

La vacuna Sabin de la poliomielitis se asocia con parálisis en proporciones que van desde 1:1,000,000 de dosis aplicadas hasta 1:10 o más millones según el serotipo.

Entre las vacunas con virus atenuados del sarampión, se presenta un caso de encefalitis por cada millón de dosis aplicadas. Se ha observado la misma frecuencia con la vacuna antivariolosa.

En la rabia, la tasa de accidentes neuroparalíticos es de 1:20,000 a 1:40,000 con las vacunas de Fuenzalida y la de embrión de pato; la vacuna de Semple puede producir un accidente paralítico importante en uno de cada 6000 tratamientos.

El riesgo con la vacuna de la rubéola, es que las mujeres embarazadas en contacto con niños recién vacunados, y siempre y cuando no posean títulos protectores de anticuerpos, tienen un alto riesgo de contagio, pudiendo presentarse malformaciones en el feto, o abortos espontáneos, debido a la infección por el virus de la vacuna,

EMPLEO DE SUEROS INMUNES. La administración profiláctica de sueros inmunes confiere también protección contra las enfermedades virales, gracias al alto título de anticuerpos que en ellos se encuentran; a éste procedimiento en el que se emplean sueros o gamma globulinas, se le conoce como Inmunoterapia.

La principal razón para el empleo de la inmunización pasiva es su "acción inmediata", ya que los anticuerpos previamente sintetizados, que se encuentran en el suero que se aplica, actúan en forma inmediata sobre el antígeno correspondiente. Por lo tanto la ventaja evidente es que puede efectuarse una inmunización pasiva en situaciones de emergencia, cuando no hay tiempo para que el individuo produzca en forma natural una respuesta inmune activa, o bien cuando no se tiene una vacuna apropiada. En general la eficacia de la inmunización pasiva depende del tiempo que transcurrió entre la exposición al agente viral y la administración del anticuerpo, así, cuanto menor sea éste intervalo, más probable es que la enfermedad se pueda controlar.

Entre las principales fuentes de anticuerpos encontramos dependiendo de su origen: 1) sueros completos de convalecientes, los cuales generalmente tienen un alto título de anticuerpos específicos, 2) gamma globulina obtenida de mezcla de sueros (Globulina Sérica Inmune GSI), 3) gamma globulina que proviene de sueros con alto contenido de anticuerpos específicos (Globulina sérica Inmune Específica GEI) y 4) suero completo de un animal hiperinmunizado con un antígeno específico (antitoxina o suero inmune terapéutico).

La aplicación de sueros inmunes o gamma globulinas, permite evitar o modificar el curso de varias enfermedades de incubación larga tales como: sarampión, hepatitis infecciosa, poliomielitis y paperas, así como ciertas enfermedades virales que evolucionan con una viremia, como la encefalitis.

A continuación se enumeran diversos agentes profilácticos que existen contra algunas infecciones víricas:

gammaGlobulina contra:	Dosis mg/Kg de peso	Observación
Sarampión	32 32-80 80-160 160-320	Profilaxis Atenuación Casos graves Encefalitis
Parotiditis	32-48 976 (Dosis total) 960 (Dosis total)	Profilaxis y atenuación en niños. Jovenes y adultos Gestantes

CONTINUA...

gammaGlobulina contra:	Dosis mg/Kg de peso	Observación
Varicela	32 - 48	Profilaxis
	48 - 80	Atemuación
Rubeola	32 - 48	Profilaxis y atemuación
	5600- 7200 (dosis total)	Gestantes
Poliomielitis	48 - 80	Profilaxis
	160	Atemuación

Puesto que para la mayoría de éstas enfermedades existen vacunas, solo se recomienda el empleo de inmunoglobulinas en el caso de la rabia, que es un caso especial en el que se combinan tanto la inmunización activa como la pasiva. En general el suero antirrábico, se emplea como complemento de las vacunas, cuando se estima elevado el riesgo de que se declare la enfermedad, como ocurre en las mordeduras de lobos, las mordeduras múltiples y las mordeduras en la cara, la cabeza, cuello o dedos de la mano.

Por otro lado, es importante mencionar, que la inmunización pasiva envuelve ciertos inconvenientes, por ejemplo, los concentrados de GSI y GIE muestran tendencia a formar agregados de grandes biopolímeros, provocando reacciones anafilácticas después de un empleo prolongado, en especial cuando se hace por vía intravenosa; además el peligro de hipersensibilidad aumenta conforme al tiempo de aplicación.

Los sueros inmunes, por ser de origen animal(heterólogo) también presentan el problema de hipersensibilización y solo deben emplearse cuando no es posible obtener la globulina de origen humano.

CARACTERISTICAS DE ALGUNAS VACUNAS VIRALES

ENFERMEDAD	MEDIO DE PROPAGACION	ESTADO DEL VIRUS	VIA DE ADMINISTRACION	PRIMERA APLICACION	REFUERZO
	Embrión de pa to (Inactiva- do con B-propio lac- tona)	INACTIVADO	Subcutanea	Inmediatamente después de com probar que la mordedura la produjo un ani mal rabioso	Cada día durante semanas
	Línea celular WI-38	INACTIVADO	Subcutanea	Inmediatamente después de com probar que la mordedura la produjo un ani mal rabioso	3 dosis de 1 ml c/u
PAROTIDITIS	Embrión de pollo (virus formoli- zado)	INACTIVADO	Subcutanea	Al año de edad	No se reco- mienda
RUBEOLA	Embrión de pollo Células de Riñón de mono verde	ATENUADO	Subcutanea	Al año de edad	No se reco- mienda
INFLUENZA	Líquido alan- toideo del embrión de pollo (formo- lizado)	INACTIVADO	Subcutaneo	Solo en caso de Instituciones	epidemias y en militares
FIEBRE AMA- RILLA	Cultivo celu- lar y embrión de pollo (cepa 17 D)	ATENUADO	Subcutaneo ó escarificación	Al año de edad	No se reco- mienda
ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA	Embrión de pollo (formolizado)	INACTIVADO	Subcutanea		

CARACTERISTICAS DE ALGUNAS VACUNAS VIRALES

ENFERMEDAD.	MEDIO DE PROPAGACION	ESTADO DEL VIRUS	VIA DE ADMINISTRACION	PRIMERA APLICACION	REFUERZO
VIRUELA	Linf a de ternera u oveja (disecada y glicerizada)	ATENUADO	Escarificación I.D. ó por <u>pr</u> <u>si</u> ón múltiple	No se aplica actualmente	—
POLIOMIELITIS	Cultivo de células de riñón de mono (formolizadas) Cultivo de células de riñón de mono	INACTIVADO (Salk) ATENUADO (Sabin)	Subcutanea ORAL	Entre 2-6 meses	Un año después
SARAMPION	Cultivo celular de embrión de pollo Cultivo celular de riñón de mono	ATENUADO INACTIVADO	Subcutanea Subcutanea	Después de los 9 meses	Solo si se vacuno antes de los 9 meses
RABIA	Cerebro de animales, formalinizados, tratados con fenol, cloroformo, eter y luz ultra violeta Cepa Flury en embrión de pollo	ACTIVO ó INACTIVADO ATENUADO	Subcutanea Subcutanea	Inmediatamente después de <u>com</u> <u>pro</u> <u>bar</u> que la mordedura la produjo un animal rabioso Inmediatamente después de <u>com</u> <u>pro</u> <u>bar</u> que la mordedura la produjo un animal rabioso	Cada día durante 2 semanas Cada día durante 2 semanas

BIBLIOGRAFIA

Beale A.J.: Prospects for new vaccines. Postgrad. Med.J. 52(611): 587-592, (1976).

Edelman R.: Vaccine adjuvants. Rev. of Inf. Dis. 2(3): 370-383 (1980).

Fujigaki L.A. y cols.: Vacunas tradicionales (revisión de esquemas de vacunación). Sal.Pub.Méx. Vol.XXII No.5, 531-536 (1980).

Glezen W. Paul: Consideration of the risk of influenza in children and indications for prophylaxis. Rev. of Inf.Dis. 2(3): 408-420 (1980).

Gelbain H. and Levy H.B.: Polynosinic-polycytidylic acid inhibits chemically induced tumorigenesis in mouse skin. Science 167: 205 (1970).

Gregoriadis G.: Targeting of drugs: possibilities in viral chemotherapy and prophylaxis. Pharmacol.Ther. 10(1): 103-118 (1980).

Grunert R.R.: Search for antiviral agents. Am.Rev.Microbiol. 33: 335-353(1979).

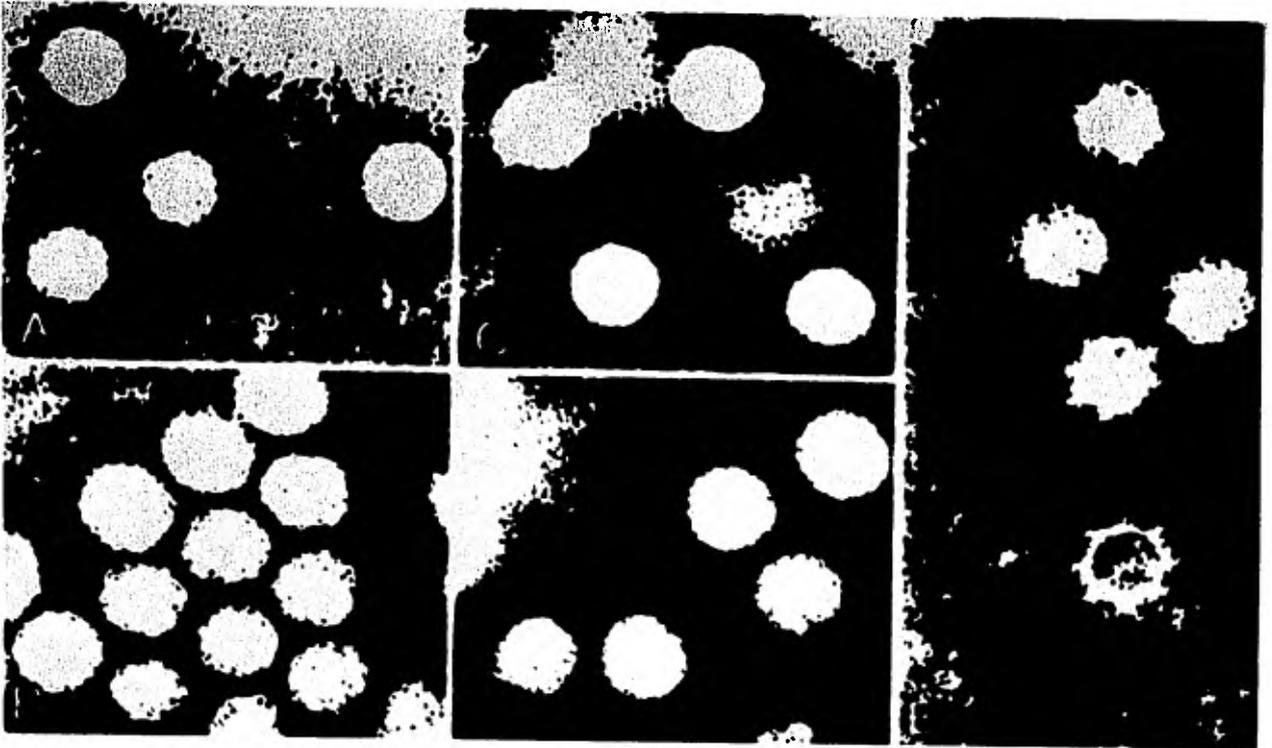
Hahn F.E.: Virus chemotherapy: the problem its development and nature. Antibiotic Chemother. 27: 1-21 (1980).

Herrmann E.C.: Second conference on antiviral substances. Ann. N.Y.Acad.Sci. 173:1 (1970).

Kumate Jesus: Inmunidad, Inmunización, Vacunas. 1ra. edición. Ediciones médicas del hospital infantil de México. (1977).

OMS Serie de informes técnicos No.325. Vacunas humanas de virus y rickettsias. (1966).

Whitley R.J. and Alford Ch.A.: Developmental aspects of selected antiviral chemotherapeutic agents. Ann. Rev. Microbiol. 32: 285-300 (1978).



PICORNAVIRUS

A-Cardiovirus

B-Enterovirus porcino

C-Aftovirus (Enfermedad de pie y boca)

D-Rinovirus humano

E-Calicivirus

CAPITULO VI . VIRUS DE ARN

PICORNAVIRIDAE

CLASIFICACION. La familia de los picornavirus (pico: muy pequeño, ARN) se clasifican según Melnick, (1980) en :

P I C O R N A V I R I D A E	}	ENTEROVIRUS	{	Poliovirus	{	Tipos I, 2 y 3
				Echovirus	{	Tipos I - 33
				Coxsackie	{	Tipo A (A ₁ - A ₂₄) Tipo B (B ₁ - B ₆)
		RINOVIRUS CARDIOVIRUS AFTOVIRUS MAPOVAVIRUS (virus de las plantas)				

CRIPTOGRAMA . R/I ; 6.4-6.8/2.5 ; S/S ; V

PROPIEDADES GENERALES . Los picornavirus carecen de envoltura, presentan simetría icosaédrica, con un tamaño que varía de 20 a 30 nm. El genoma está formado de ARN de una sola cadena , con un PM de 2.5 x 10⁶ a 3 x 10⁶ d y representa el 30% del PM total del virus. Son relativamente estables a temperatura ambiente y resistentes al éter, cloroformo y algunos disolventes orgánicos.

La composición estructural de los picornavirus está dada por cuatro polipéptidos, VP₁, VP₂, VP₃ y VP₄ , considerandose que existen alrededor de 60 copias de éstos polipéptidos por virus (Kitamura, 1981; Putnak J.R., 1981).

REPLICACION. El mecanismo de replicación se inicia cuando el virus interactúa con los sitios receptores específicos de la célula que infecta (adsorción). Posteriormente penetra en la célula , se descapsula y libera su genoma de ARN en el citoplasma. La replicación en sí tiene lugar vía un intermediario replicativo (IR), y la cadena simple de ARN, con aproximadamente 6500 nucleótidos, sirve como ARNm (ARN +) para iniciar la transcripción . La replicación la inicia la ARN polimerasa, codificada por el genoma viral, a partir del extremo 3' del ARNm para la formación de una cadena complementaria (ARN -), que a su vez sirve como molde para la síntesis de la cadena del nuevo ARN + .

En tres y media horas se ha sintetizado de 10 a 20% del total de ARN, que

será finalmente encapsulado. Al mismo tiempo se inicia la síntesis de un polipéptido largo y único, que se fragmenta enzimáticamente en los polipéptidos estructurales de la cápside: VP_0 , VP_1 y VP_3 ; cuando al final del proceso, el ARN vírico sintetizado "de novo", es encapsidado, el VP_0 se escinde en VP_2 y VP_4 , formándose así los 4 polipéptidos de la cápside (D.V.Sangar, 1979).

La síntesis, lo mismo que la maduración viral, son intracitoplásmicos.

El ensamblaje viral de las partículas infecciosas se verifica rápidamente, formándose a veces pequeños cristales intracitoplásmicos compuestos de viriones, y a veces también se ensamblan cápsides vacías. Esto ha sido observado al microscopio electrónico (Sangar 1979; Putnak 1981).

El virus infeccioso es liberado a través de vacuolas, que se funden con la membrana plasmática formando microtúbulos y tras un período de varias horas se libera de la célula huésped, produciendo su lisis y muerte.

ENTEROVIRUS. El grupo de los enterovirus (poliovirus, Echovirus y coxsackie) son llamados así porque infectan al tracto digestivo; se diferencian de los rinovirus por su estabilidad al ácido y su coeficiente de densidad en CsCl. Los poliovirus, ECHO y coxsackievirus son ácido-estables a pH-3, no así los rinovirus que se destruyen a un pH de 5 o menos (Newman et al. 1973). La densidad en CsCl para los Rinovirus es de 1.4g/ml y para los enterovirus de 1.3 g/ml (Melnick et al. 1979; Taber 1978).

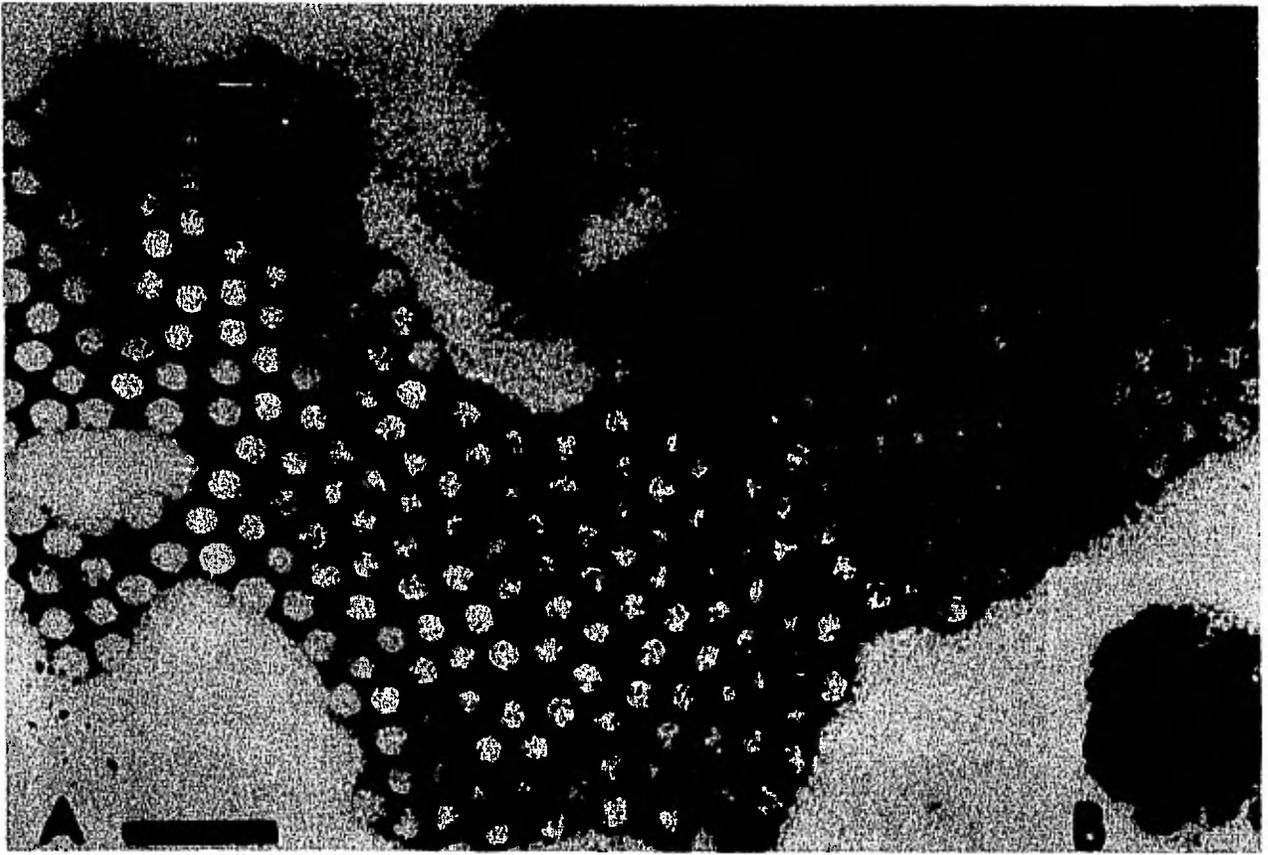
POLIOVIRUS

PROPIEDADES GENERALES . Los poliovirus tienen un diámetro de 27 a 28 nm su núcleo interno mide 160 nm, el PM de su ARN es de 2.5×10^6 d, poseen un coeficiente de sedimentación de 160 S y el PM del virus completo es de 6.4 a 6.8×10^7 d.

Los poliovirus mantienen su infectividad a -20°C y pueden conservarse durante 8 años a -70°C , se inactivan por el calor a 60°C durante 30 min, aunque cuando se adiciona MgCl_2 IM pueden permanecer estables por más tiempo. También se inactivan con formaldehído, agentes oxidantes y luz UV, ésta última no destruye sus propiedades antigénicas.

Los poliovirus se cultivan fácilmente en cultivos de células, siendo las más empleadas las líneas celulares provenientes de fibroblastos de mono, riñón de mono, cultivos primarios de amnios humano y células HeLa.

PROPIEDADES ANTIGENICAS . Los poliovirus comprenden tres tipos antigeni-



Poliovirus

oamente distintos, el 1, 2 y 3, que pueden identificarse por pruebas de neutralización y fijación del complemento, utilizando sueros específicos.

Cada tipo de poliovirus posee dos antígenos detectados por fijación del complemento o difusión en gel: el antígeno D (denso), el cual se encuentra en los virus completos que contienen las 4 cadenas polipeptídicas VP_1 , VP_2 , VP_3 y VP_4 ; y el antígeno C, que se encuentra en las partículas víricas en las que no se ha incluido el ARN y carecen de VP_2 y VP_4 , conteniendo el precursor VP_0 .

El antígeno D está presente en altos títulos en preparaciones infecciosas, pero puede ser convertido en antígeno C por calentamiento a $56^{\circ}C$, pH alcalino, fenol o luz ultravioleta.

Durante una infección los anticuerpos contra el antígeno C aparecen antes que los anticuerpos contra el antígeno D, pero los niveles de los anticuerpos contra el antígeno C son los primeros en decaer.

Los anticuerpos fijadores del complemento se forman solo después de la primera infección en individuos jóvenes mientras que en infecciones posteriores con otro tipo de poliovirus se induce la producción de anticuerpos contra antígenos específicos de grupo (Hughes, 1977; Urasawa, 1977).

PATOGENESIS. El virus penetra al tracto digestivo por vía oral ya sea por ingestión de alimentos y/o bebidas contaminadas, etc. Inicialmente el virus se multiplica en las amígdalas, ganglios linfáticos del cuello, placas de Peyer y mucosas del intestino delgado, sin embargo a este respecto, existen dos puntos de vista; de acuerdo a Bodian y Harstmann, el sitio primario de multiplicación viral es el tejido linfático, mientras que según Sabin, es el tracto orofaríngeo y la mucosa intestinal. El periodo de incubación de la poliomielitis es de 4 a 35 días con un promedio de 14 días. Antes de la aparición de síntomas, es posible encontrar poliovirus en garganta y heces, excretándose durante varias semanas por las heces, dando lugar así a una diseminación de tipo oro-fecal (Rueckert, R.R. 1976).

Una semana después del inicio de los síntomas puede presentarse una viremia, considerándose ésta la fase crítica de la patogénesis de la polio, y es cuando el sistema nervioso central puede ser invadido; el virus también puede ascender por los axones nerviosos periféricos hasta las neuronas del asta inferior de la médula, en cuyo caso se produce su destrucción, lo cual da como resultado una parálisis. La infección de las neuronas puede ocasionar polio bulbar, que a veces resulta mortal, por insuficiencia cardíaca y respiratoria.

Afortunadamente la proporción de pacientes infectados con virus de la polio mielitis que llegan a sufrir parálisis no excede del 1%.

En cuanto al cuadro clínico, se pueden presentar las siguientes manifestaciones : 1) una infección inaparente, 2) infección leve caracterizada por cefalea, fiebre, dolor de garganta y náusea, 3) meningitis aséptica o 4) poliomielitis paralítica, causada frecuentemente por el poliovirus tipo I.

INMUNIDAD . Los anticuerpos producidos como respuesta a la infección son de tipo IgA, IgM o IgG y aún cuando la madre confiere al hijo inmunidad pasiva contra los poliovirus, dicha inmunidad disminuye durante las primeras 6 a 9 meses de vida .

Por otro lado , si se sufre la infección se adquiere inmunidad permanente, la cual suele ser homotípica , esto explica que en algunas ocasiones se produzca un nuevo ataque , reportándose pocos casos de resistencia cruzada (inmunidad heterotípica, entre los poliovirus tipos I y 2).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico para los poliovirus, se lleva a cabo mediante reacciones de neutralización, fijación del complemento o inmunofluorescencia. Durante los tres a cinco primeros días de la enfermedad es posible aislar el virus de secreciones faríngeas (hisopo faríngeo), y después de 2 semanas , el aislamiento se hace a partir de materia fecal (hisopo o escobillón rectal) . Para el aislamiento del virus , es necesario procesar las muestras , suspendiéndolas en una solución salina balanceada y añadiendo antibióticos para evitar la proliferación bacteriana y micótica. Las muestras así tratadas se inoculan en cultivos celulares de amnios humano o líneas celulares del tipo Hep-2, Vero etc. , la aparición del ECP puede indicarnos la presencia del virus, siempre y cuando , los controles de células se conserven en buenas condiciones. El efecto citopático puede observarse como una retracción celular, redondeamiento y a veces hinchazón de las células seguida de lisis(Melnick J.L., 1979)

La identificación se realiza por pruebas de neutralización , usando sueros hiperinmunes control para los tres tipos antigénicos. Para establecer el diagnóstico serológico, se comparan los títulos de anticuerpos de los sueros obtenidos en la fase aguda y en la fase de convalecencia(dos a tres semanas después) por medio de las reacciones de neutralización, inmunofluorescencia o ELISA.

EPIDEMIOLOGIA . El hombre es el único reservorio natural de los poliovirus, cuya distribución se considera universal. Influyen en la aparición de -

la poliomielitis factores como el clima, la edad pero no el sexo, ya que la enfermedad se dá por igual en hombres y mujeres.

La poliomielitis se presenta con mayor frecuencia en los meses cálidos y húmedos. Recientemente se han realizado estudios (García de Alba, 1976) para correlacionar los factores ambientales (humedad y temperatura) con la incidencia de poliomielitis en el Distrito Federal, encontrándose que el mayor número de casos se presenta cuando las condiciones de temperatura se sitúan entre los 23.5°C y 9.8°C y las de humedad entre el 26 y 78%.

Respecto a la edad, la incidencia de infección es máxima durante la infancia, sin embargo la frecuencia y gravedad de las lesiones paralíticas aumenta conforme aumenta la edad en personas sensibles y de los 15 años en adelante es mayor el riesgo de contraer la enfermedad con curso y secuelas graves.

La poliomielitis se considera una paradoja, ya que si la higiene y condiciones sanitarias son deficientes, por ejemplo en los países subdesarrollados, casi todos los niños entran en contacto con el virus, mientras todavía están protegidos con anticuerpos maternos por lo que adquieren inmunidad activa y reducen casi por completo el riesgo de sufrir parálisis. En cambio en países con buenas condiciones sanitarias, los niños están poco expuestos y pueden llegar a adultos sin haber padecido la infección y sin títulos protectores, por lo que la mayor frecuencia de parálisis corresponde a poblaciones con altos niveles socioeconómicos y buenas condiciones sanitarias. Esto siempre y cuando no se lleven a cabo en forma adecuada las campañas de vacunación.

Por otro lado, en México, aún cuando se llevan a cabo intensas campañas de vacunación, la poliomielitis no ha logrado ser erradicada, en primer lugar debido a la constante aparición de población susceptible, es decir, a la alta tasa de crecimiento demográfico que se presenta, y también a la mala planeación de las campañas en las poblaciones rurales, a las que muchas veces debido a la falta de vías de comunicación o por las condiciones climatológicas, la vacuna llega en mal estado o ya ha perdido su antigenicidad.

Respecto a la incidencia, el boletín epidemiológico de la SSA de diciembre de 1981, reporta un total de 580 casos en el año de 1980, siendo el estado de Guanajuato el que mayor número de casos presenta.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN. Se dispone de dos vacunas para la prevención de la poliomielitis: la vacuna de virus atenuados tipo Sabin y la vacuna de virus muertos tipo Salk. La primera posee más ventajas sobre la vacuna de virus muertos, puesto que es de fácil administración (vía oral) y relativamente más económica, con ella se induce tanto la producción de anticuerpos humorales como de coproanticuerpos tipo IgA, ya que el virus se multiplica en el epitelio intestinal, confiriéndose entonces una protección contra la infección. Esto a diferencia de la vacuna tipo Salk en la que no se impide la infección sino solo la enfermedad (Rowlands, 1979).

La vacuna Sabin puede aplicarse en forma trivalente o monovalente. Particularmente en México, el esquema de inmunización que se sigue, es el de aplicar a los tres meses de edad una primera dosis de vacuna trivalente, después una segunda y tercera dosis espaciadas entre sí dos meses, de tipo monovalente (tipo I). Posteriormente se recomiendan dos vacunaciones, también con vacuna monovalente de virus tipo I, a los 3 y 6 a 7 años de edad. La vacuna trivalente contiene los tres tipos de virus, pero en concentraciones diferentes; en mayor concentración el virus tipo I y en menor el virus tipo 2, porque éste último tiene mayor poder infectante e interferiría con la respuesta de los otros dos tipos si se encontraran en concentraciones iguales; la finalidad de emplear en las revacunaciones la vacuna monovalente con virus tipo I es porque éste poliovirus es el que causa con mayor frecuencia parálisis en la República Mexicana (Normas de educación para la Salud Pública, editada por SSA, 1980)

ECHOVIRUS

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS. Los ECHOvirus (Enteric Cytopathogenic Human Orphan) miden aproximadamente 28 μ , tienen una densidad en CsCl de 1.34 g/ml., y al igual que los poliovirus, son resistentes al éter. Pueden mantenerse estables a temperaturas de -20°C , 4°C , 22°C y 37°C y aún conservar sus propiedades infectivas a -70°C , inactivándose fácilmente a 65°C durante 30 min.

REPLICACIÓN. Los virus ECHO siguen el esquema general de replicación de los picornavirus, solo los virus ECHO de los tipos 22 y 23 poseen al parecer un tipo de replicación distinto y provocan cambios nucleares característicos (Wenner H.A., 1968).

HEMAGLUTINACION. De los 34 tipos de virus ECHO que existen, 12 de ellos poseen propiedades hemoaglutinantes: el 3,6,7,10,11,12,13 y 19 aglutinan a los eritrocitos tipo "0" y los virus 7,12 y 29 pueden aglutinar a los eritrocitos de mono verde africano. La hemoaglutinación óptima es a 4°C y a un pH de 6.3 a 6.6. La hemoaglutinina forma parte integral de los virus y no es separable de ellos. Ciertos tipos (3,11,12,20 y 25) se eluyen de forma espontánea de los eritrocitos aglutinados pero no destruyen los sitios receptores de las células (Mutanda y Mufson, 1974).

PROPIEDADES ANTIGENICAS. La clasificación por tipo de cada virus ECHO depende de un antígeno específico de la cápsida, y la prueba de neutralización es el método más valioso para su identificación. Con ésta prueba y con la de fijación del complemento se han encontrado 34 serotipos. Los virus ECHO no poseen ningún determinante antigénico característico de grupo, pero entre algunos de ellos se presentan reacciones cruzadas, por ejemplo, entre los tipos 12 ó 13 con el tipo 18, entre el 1 y el 8, y entre los tipos 22 y 23. Además existe evidencia de una ligera relación antigénica entre ECHOvirus y poliovirus o coxsackie (Melnick J.L. et al 1974).

PATOGENESIS. Los virus ECHO penetran en el hombre por vía oral y algunos probablemente lo infectan a través de las vías respiratorias. El foco primario de infección es entonces el tubo digestivo y vías respiratorias, quedando la mayor parte de las infecciones, limitadas a éstas vías. Muchas infecciones son inaparentes, pero a veces el virus puede diseminarse y provocar fiebre, exantemas e infecciones del sistema nervioso central. Los serotipos 4,6,9 y 17 son los únicos que pueden causar importantes cuadros clínicos como meningitis aséptica o encefalitis (Hasegawa A., 1979; Medulla, 1976).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El aislamiento de los virus a partir de heces, lavados rectales y secreciones faríngeas en células de riñón de mono (Macaca rhesus, cynomolgus o cercopithecus) es el procedimiento más sensible y seguro para el diagnóstico de una infección por estos virus. La propiedad hemoaglutinante de ciertos ECHOvirus puede utilizarse con fines diagnósticos, sin embargo las pruebas de neutralización aportan el criterio definitivo. El diagnóstico serológico es caro e inadecuado, debido a la ausencia de antígenos comunes, pues sería necesario estudiar cada suero frente a los 34 serotipos del virus, por lo que no se utiliza habitualmente.

EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL. Los virus ECHO se hallan distribuidos ampliamente por todo el mundo, siendo el hombre, los gatos y los perros los huéspedes naturales. Aunque son enterovirus, las secreciones respiratorias constituyen una vía de transmisión más importante que las heces. Afectan especialmente a niños y los brotes epidémicos suelen aparecer en el verano y en poblaciones de bajas condiciones socioeconómicas.

No existen vacunas contra los ECHOvirus ni sería aconsejable su empleo debido al elevado número de tipos y a la rareza con que se producen epidemias por un solo serotipo.

COXSACKIEVIRUS

PROPIEDADES GENERALES. Los virus Coxsackie son similares a los poliovirus, tanto en su tamaño como en su forma, estabilidad, PM y su composición química; sin embargo la composición de bases es muy distinta, especialmente con respecto a su elevada proporción de guanina-citosina:

	Coxsackie	Poliovirus
Guanina	1.13	0.96
Citosina	0.82	0.88

Los virus Coxsackie son estables entre un pH de 2.3 a 9.4, son resistentes al etanol y se inactivan con HCl 0.1N. Se aislaron por primera vez en ratones recién nacidos y su diferenciación en los grupos A y B es con base a las lesiones patológicas que producen en estos animales. Los Coxsackie virus del grupo A provocan una miositis generalizada y degeneración del músculo esquelético acompañada de una parálisis de tipo flácido. Los Coxsackie virus del grupo B causan en los ratones inoculados miositis focal, lesiones típicas en el tejido adiposo y en el cerebro, miocarditis, endocarditis, hepatitis y pancreatitis; además ambos grupos inducen lesiones en los huesos de los ratones que simulan crecimiento neoplásico.

Los virus tipo A7 y A9 pueden ser cultivados en células de riñón de mono, los A21 crecen mejor en líneas HeLa, Hep-2 y KB, y por ejemplo los tipos A1, A5, A6, A19 y A22 que antes solo se podían cultivar en ratones recién nacidos, se cultivan fácilmente en células diploides de origen humano. Los virus tipo B se desarrollan fácilmente en células de riñón de mono y en una gran variedad de líneas celulares de origen humano como HeLa, amnios, etc.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Se conocen a la fecha 24 serotipos del grupo A y 6 del grupo B, que se distinguen por la existencia de determinantes antigénicos específicos de tipo sobre la superficie del virus, mediante pruebas de neutralización o fijación del complemento.

Aunque no existe ningún antígeno común para el grupo A, se han observado reacciones cruzadas heterotípicas entre algunos de los virus de este grupo, por ejemplo entre el A3 y el A8, A11 y A15, A13 y A18. Por otro lado, todos los grupos del grupo B y el virus A9 poseen un antígeno común que se detecta por difusión en gel de agar.

Además se ha demostrado, por ejemplo en el virus B5, por centrifugación en gradiente de densidad con sacarosa o CaCl₂, la presencia de dos determinantes antigénicos parecidos en forma, tamaño y propiedades, a los antígenos fijadores del complemento C y D de los poliovirus, conocidos como antígeno precipitante de grupo y antígeno precipitante específico (L.H. Frommshagen, 1965).

Existe también en los virus Coxsackie un antígeno hemoaglutinante, como en algunos otros picornavirus, que en el caso de los tipos A20, A21, A24 y B1, B3, B5 y B6 son capaces de aglutinar los eritrocitos humanos tipo "O", mientras que los virus Coxsackie A7, aglutinan los eritrocitos de pollo.

PATOGENESIS. La mayor parte de las infecciones por virus Coxsackie en el hombre, son benignas, sin embargo pueden producir una gran variedad de cuadros patológicos. Los virus Coxsackie A9, A7, B1, B2, B4, B3 y B5 se ha reportado que causan meningitis aséptica, algunos pueden causar enfermedades neuromusculares como el A7 y el A11, ó encefalitis como el B3, B5 y B6.

En general los virus del grupo A, causan la herpangina, que es una enfermedad febril con cefalea, faringitis, disfagia y anorexia, y cuyas lesiones características son pequeñas pápulas en la faringe que se convierten en vesículas ulceradas y también pueden ocasionar lesiones al corazón, al sistema nervioso central y diarreas infantiles.

Los virus Coxsackie del grupo B son la causa de la mayoría de las miocarditis y pericarditis, se asocian a enfermedades como pancreatitis, algunas orquitis, parotiditis, etc., y se ha sugerido una posible asociación de los virus B4 y B5 con diabetes mellitus (Norman R. Grist, 1978).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico etiológico de las infecciones por virus Coxsackie se basa en el aislamiento del virus a partir de las heces (lavado rectal), secreciones faríngeas o líquido cefalorraquídeo, por inoculación en ratones recién nacidos, para clasificarlo como tipo A ó B, - inoculándolos posteriormente en los cultivos celulares ya mencionados. El virus puede también identificarse por pruebas de neutralización, fijación - del complemento o inhibición de la hemoaglutinación, lo que resulta más difícil debido al gran número de serotipos que existen.

El diagnóstico serológico sin aislamiento del virus no puede establecerse, debido también a la existencia del gran número de tipos antigénicos.

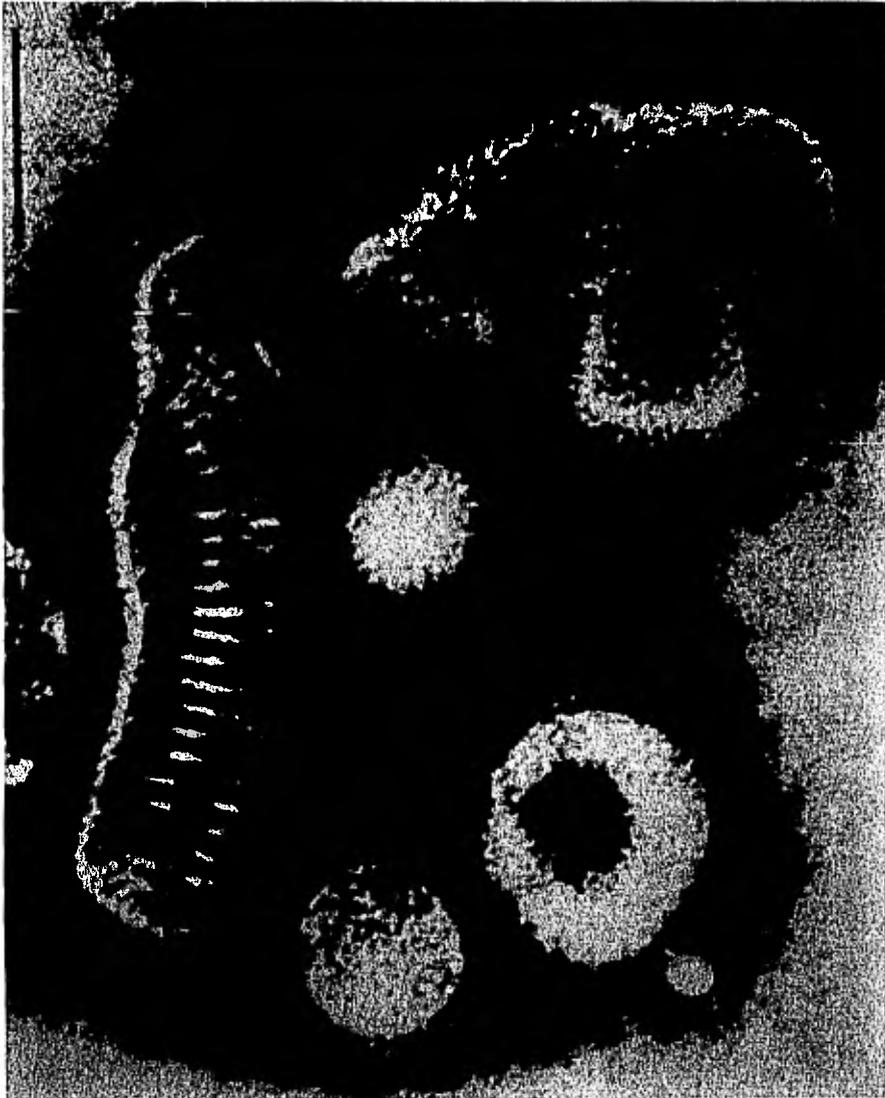
EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL. Los virus Coxsackie tienen distribución universal y su mecanismo de diseminación varía con el síndrome clínico que producen. La mayoría de las infecciones clínicas y de las epidemias se producen en verano y otoño, encontrándose un alto porcentaje de virus en las heces, - lo que sugiere una forma de transmisión oro-fecal, sin embargo una diseminación aérea también es posible, ya que algunos de estos virus se pueden aislar de las secreciones nasales y faríngeas.

Hasta el momento, no existen medidas de control adecuadas. La vacunación no resulta útil debido al gran número de virus y procesos patológicos - que provocan cada uno de ellos en el hombre.

BIBLIOGRAFIA

- Andrewes S. Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Ed. Baillieri Tindall and Co.Ltd. London, (1978).
- Dunker Keith A.: The structure of picornavirus. *Virology*, 97, 141-150 (1979).
- Frommshagen H. Laurence: The separation and physicochemical properties of the C and D antigens of Coxsackievirus. *J. of Immunol.* 95(5): 818-821 (1965).
- García de Alba J., Rebolledo Z.A., Suárez P.: Influencia del clima y la vacunación en la incidencia de la poliomiелitis. *Salud Pública de México*. Vol. XVIII No.3 , 509-517 (1976).
- Grist R.N., J.Bell and F. Assad: Enteroviruses in human disease. *Prog. Med. Virol.* (24): 114-157, (1978).

- Hughes J.H. et.al.: Picornaviruses : Rapid differentiation and identification by immune electronmicroscopy and immunodiffusion. *J. Med. Microbiology* 10(2) 203-212, (1977).
- Hasegawa A., et.al.: Antigenicity and polypeptide composition of native and heated echovirus type 7 procapsids. *J. of Gen.Virol.* 42(1): 119-125, (1979).
- Kitamura Noemi et.al.: Primary structure, gene organization and polypeptide expression of poliovirus RNA. *Nature* 291: 547-553, (1981).
- MacGregor S.: Picornaviral capsid assembly: similarity rhinovirus and enterovirus precursor subunits. *J.Virol.* 21(2): 548-553, (1977).
- Mapoles J.E.: Properties of poliovirus propagated in medium containing cesium chloride: implications for picornaviral structure. *Virology* 90(1):103-111,(1978).
- Medulla M.: Myocarditis associated with ECHO type 7 infection in a leukemic child. *Acta Paediatrica Scand.* 65(5): 649-651, (1976).
- Melnick J.L.: Taxonomy of viruses. *Prog.Med. Virol.* 26: 214-232, (1980).
- Melnick J.L.et.al.: Enteroviruses. In *Diagnostic Procedures for viral, Rickettsial and chlamydial Infections.* pp.471 (E.H. Lennette and N.J.Schidt, eds.) American Public Health Association, Inc. Washington D.C. (1979).
- OMS, Normas para la vacuna antipoliomielítica (oral). 24^a Informe, (1971).
- Mutanda y Mufson: *Proc. Soc. Exp.Biol.Med.* 145:1008 (1974).
- Newman J.F.E. et.al.: A physico chemical sub grouping of the mammalian picornaviruses. *J.Gen. Virol.* 18, 171-180 (1973).
- Putnak J.R.and Phillips B.A.: Picornaviral structure and assembly. *Microbiol. Reviews* 45(2): 287-315, (1981).
- Rueckert,R.R.: On the structure and morphogenesis of picornavirus. In *Comprehensive Virology.* Vol.6 pp. 131-213. (Fraenkel-Conrat eds.) New York. Plenum publishing corporation (1976).
- Rowlands D.F.: Letter: poliomyelitis today. *Lancet* 2(7976): 104, (1976).
- Sangar D.V.: The replication of picornaviruses. *J.Gen.Virol.* 45, 1-13, (1979).
- Taber R.: The encapsulation of picornaviruses by lipid vesicles: physical and biological properties. *Ann.N.Y. Acad.Sci.* 308: 268-274, (1978).
- Urasawa S. et.al.: Antigenic variation of poliovirus caused by antibody components with different specificities. *Microbiol.Immunol.* 21(1):299-307,(1977).



Orthomyxovirus

ORTOMIXOVIRIDAE

CLASIFICACION. Se ha llamado Ortomixoviridae a la familia que incluye los géneros de los virus de la Influenza, antes denominados mixovirus (mixo-moco) y que son los siguientes :

ORTOMIXOVIRIDAE	{	Virus de la Influenza	{	Tipo A
				Tipo B
				Tipo C

CRIOGRAMA. R/1 ; 4.6-6.4/0.75-1.0 ; S/E ; V

PROPIEDADES GENERALES. Los virus de la influenza se consideran pleomórficos, ya que aunque en general son esféricos, a veces aparecen formas filamentosas, con el mismo diámetro que los virus esféricos pero más largos. Tienen un tamaño de 80-120 nm, y un PM de 3.8×10^8 d. Estos virus poseen una mi cleocápside helicoidal de 6 a 9 nm de diámetro y 600 Å de longitud, la cual se encuentra dentro de una envoltura lipoproteica recubierta de "espículas" de 8-10 nm de largo (peplómeros), separadas una de otra de 7-8 nm (Hoyle, 1969). Estos peplómeros constituyen la neuraminidasa y hemaglutinina virales. La he maglutinina es una glicoproteína que presenta una estructura en forma de va rilla de 140 x 40 Å y la neuraminidasa aunque su estructura es más compleja tiene un tamaño menor de 85 x 50 Å.

El genoma viral está formado de ARN monocatenario, fragmentado probablemente en 8 segmentos para los tipos A y B y en 4 para el tipo C, con un peso molecular total de $4.6-6.4 \times 10^6$ d y que constituye del 0.75 al 1.0% del peso del virus. El coeficiente de sedimentación del ARN es de 7 a 42 S y la com posición de sus bases resulta similar en los tres tipos.

El 70% del peso del virus es de naturaleza proteica. Mediante electrofo resis en gel de poliacrilamida se han detectado 8 polipéptidos estructurales: P₁ y P₂ que son proteínas internas no glicosiladas, con un PM de 80 000- 95 000 d y asociadas probablemente con la actividad de ARN polimerasa ; NP con un PM de 53 000 a 60 000 d, es una ribonucleoproteína no glicosilada ; y M con PM de 21 000 a 27 000 d que es la tercera proteína no glicosilada y forma parte de la envoltura. Un cuarto polipéptido es el designado HA para la hemaglutinina, que es de naturaleza glicoproteica y tiene un PM de 75 000 a 80 000 d , cuando aparece como una sola molécula ya que puede aparecer también dividida en dos : HA₁ (PM 50000 a 60000) y HA₂ (PM 23000 a 30000), (W. H. Laver y W. Baker, 1972).

La glicoproteína que constituye la neuraminidasa se designa como HA y tiene un PM de 55000 a 70000. Además se han descrito 3 polipeptidos no estructurales, uno asociado a la HA y otros dos más pequeños de función desconocida (Lazarowitz 1971; Skehel 1972). Del porcentaje restante de la composición química, un 5 a 8% es de carbohidratos y un 18 a 36% son lípidos.

Por otro lado, la infectividad de los virus de la influenza se destruye por calor a 56°C, exposición al éter, ácidos, luz UV y formaldehído. Son estables entre un pH de 7 y 8 y se conservan liofilizados o almacenados a -60°C (Dowdle Walter A. 1979).

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Los virus de la influenza poseen dos componentes antigénicos principales, que se detectan por difusión en gel, fijación del complemento e inhibición de la hemoaglutinación y son: 1) el antígeno interno (S) o de la nucleocápside, formado por las proteínas P₁ y P₂, NP y M; y 2) el antígeno externo (V) o antígeno glicoproteico superficial que corresponde a la hemoaglutinina y a la enzima neuraminidasa (Kilbourne, 1972).

La hemoaglutinina es el antígeno principal involucrado en la inmunidad e infección, pero también la neuraminidasa juega un papel importante en la respuesta inmune porque probablemente previene la diseminación viral.

Los virus de la influenza se clasifican según la especificidad de su antígeno interno en tres tipos: A, B, y C. Todos los virus del tipo A contienen el mismo antígeno (S), diferente del de los tipos B y C. Cada tipo se divide en cepas distintas con base en diferencias entre los antígenos virales de superficie (V) que representan la hemoaglutinina y neuraminidasa. Son raros los grandes cambios antigénicos a nivel del antígeno (V), pero estos cambios son la causa de las pandemias que se presentan periódicamente. — (Jackson and Muldon 1975).

PROPIEDADES ANTIGENICAS.

VIRUS TIPO A . Los virus de la influenza tipo A son la principal causa de las epidemias y neumonía primaria. Se clasifican en tres subtipos: AO , A1 y A2, sin embargo, como entre cada subtipo y entre algunas cepas de origen animal, se presentan reacciones cruzadas, ha sido necesario designar en forma numérica a los antígenos de superficie, la hemaglutinina y neuraminidasa, para diferenciar las variantes antigénicas que se han presentado con el tiempo en cada subtipo. Así se han clasificado 4 hemaglutininas humanas: HO, H1, H2, y H3, y dos neuraminidasas N1 y N2 . De esta manera, las variantes que han ido surgiendo se han clasificado como : AO(HON1), A2(H2N2) y la cepa A/HongKong(H3N2) la cual prevalece hasta nuestros días.

Cada nueva variante que surge en los virus de la influenza parece resultar de la adición de un nuevo determinante antigénico que no evita que se conserven algunos de los originales. De aquí que el virus A2(H2N2) induzca la formación de anticuerpos no solo contra sí mismo, sino también contra los determinantes antigénicos presentes en los subtipos A1(H1N1) y AO(HON1).

La razón de la aparición de variantes antigénicas es el hecho de que el genoma de los virus es segmentado y ocurren recombinaciones espontáneas entre los segmentos, dando lugar a los nuevos tipos (W.G.Laver y Webster, 1972).

HEMOAGLUTINACION. Durante el aislamiento primario, los virus de la influenza pueden aglutinar eritrocitos humanos y de cerdo, mejor que los de pollo, sin embargo después de su adaptación en la cavidad alantoidea aglutinan tanto a los eritrocitos humanos y de cerdo como los de pollo. Las cepas A2 - no presentan estas diferencias.

VIRUS TIPO B. Todas las cepas del virus B comparten un antígeno soluble. Aunque algunas cepas difieren considerablemente de otras, mantienen una especificidad antigénica de tipo, no existiendo por lo tanto subtipos comparables como los que se distinguen en el tipo A. Los virus tipo B aglutinan eritrocitos de mamíferos y aves.

VIRUS TIPO C. Existen algunas diferencias de este virus con los tipos A y B; las estructuras tubulares de su nucleocápside son un poco mayores (9nm) que los de la nucleocápside de los tipos A y B que miden 6nm. Por otro lado, los virus tipo C carecen de neuraminidasa, pero sí pueden hemaglutinar a los eritrocitos de mamíferos y aves, es más, aún cuando los eritrocitos de pollo hayan sido tratados con Enzima Destructora de Receptores (EDR) resultan aglutinables, lo que sugiere que estos virus contengan otro tipo de receptores.

REPLICACION. La infección se inicia con la adsorción de los virus a las células huésped sensibles, mediante interacción entre las espículas víricas y los receptores mucoprotéicos de las células. Los virus son englobados por vacuolas fagocíticas y de éste modo penetran a la célula, después pierden su cubierta y la nucleocápside penetra al citoplasma a través de un orificio que se produce por fusión de la envoltura viral con la membrana vacuolar (De Morgan, 1968).

En la fase inicial de la replicación es necesaria la formación de una cadena de ARN complementario (+), ya que el genoma viral es un ARN(-). Esta cadena de ARN(+) es transcrita por medio de una ARN polimerasa dependiente de ARN (replicasa) sintetizándose así el ARN_v. Por otro lado, los virus de la influenza inducen en las células infectadas, la producción de una replicasa que sirve para la síntesis de nuevo ARN vírico. Estas primeras fases de la replicación viral tienen lugar en el núcleo celular. Las proteínas de la nucleocápside se sintetizan en el citoplasma y migran con rapidez al núcleo para envolver el ARN vírico; después pasan al citoplasma y migran hacia la membrana celular, a la cual se han incorporado la hemoaglutinina y neuraminidasa sintetizadas en el citoplasma. A medida que la nucleocápside presiona sobre la membrana se inicia un proceso de gemación que da lugar a la formación y liberación de partículas víricas, sin que se produzca la lisis de las células infectadas, las cuales después de varias horas, mueren.

PATOGENESIS. Los ortomixovirus causan la influenza, que es una enfermedad respiratoria aguda generalmente benigna. Los virus se adquieren por vía respiratoria y de ahí se propagan a las células sensibles. Aún cuando se cuenta con el mecanismo de defensa constituido por las secreciones nasofaríngeas con altas concentraciones de mucoproteínas, la infección no se bloquea, debido a que la neuraminidasa vírica hidroliza los polisacáridos de dichas mucoproteínas inactivando su acción inhibidora.

La enfermedad se debe a la infección y destrucción de las células que recubren al aparato respiratorio superior, traquea y bronquios. Durante el periodo agudo de la enfermedad, después de un periodo de incubación de 24 a 48 horas, el epitelio ciliado de las vías respiratorias superiores es el que se afecta primero. La multiplicación vírica provoca la necrosis de las células infectadas y desquamación del epitelio, lo cual es responsable de los sig

nes y síntomas de la infección aguda. La viremia no es esencial en la patogénesis de la influenza, pero que la hubiera, explicaría las manifestaciones generales de la enfermedad.

El cuadro clínico comprende cefalea intensa, dolores musculares difusos, fatiga, fiebre, escalofríos y anorexia, los signos respiratorios aparecen una vez que los signos generales empiezan a ceder y suelen ser tos breve y seca, secreción nasal acuosa o nariz obstruida y sensación de ardor en la conjuntiva. A los cinco días de iniciada la enfermedad comienza la regeneración de la capa de células del tracto respiratorio y al cabo de dos semanas vuelven a estar presentes las células ciliadas.

La influenza cuando no tiene complicaciones no deja lesiones residuales. Las complicaciones más frecuentes son las infecciones bacterianas por Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus y Haemophilus influenzae, que causan bronquitis pulmonares y neumonías mortales (Jakoson y Muldon, 1975).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico de laboratorio para los ortomixovirus puede establecerse por tres procedimientos generales: 1) aislamiento del virus; 2) demostración del aumento de anticuerpos específicos y 3) observación mediante inmunofluorescencia de antígenos específicos en las secreciones y esputos.

El aislamiento primario del virus se realiza inoculando muestras de lavados de garganta o esputos en la cavidad amniótica de huevos embrionados, o bien en células de riñón de mono, o cultivo de células embrionarias de pollo. La temperatura óptima de incubación oscila entre 32 y 35°C. La multiplicación y efecto citopático producidos son diferentes según el tipo de virus, por ejemplo, los virus tipo B producen inclusiones citoplásmicas basófilas o nucleares eosinófilas. Por lo general los virus de la influenza no producen un efecto citopático inmediato, de modo que su presencia se puede comprobar por reacciones de hemoaglutinación, utilizando eritrocitos de pollo, cobayo o humanos para los tipos A y B, y de pollo para el tipo C.

El diagnóstico serológico se realiza demostrando un aumento en el título de anticuerpos por reacciones de fijación del complemento e IH.

Por último las técnicas de inmunofluorescencia, proporcionan un método para establecer el diagnóstico de la influenza cuando el paciente aún se en

cuentra en la fase aguda de la enfermedad. Las células procedentes de la región nasofaríngea tras reaccionar con anticuerpos conjugados con fluoresceína revelan la presencia de antígenos específicos.

EPIDEMIOLOGIA. La influenza es una enfermedad que aparece como epidemias periódicas, las cuales se presentan bruscamente y con frecuencia causan pandemias. Estas pandemias se deben a los virus tipo A, ya que los tipos B ó C suelen ocasionar solo brotes locales o epidemias esporádicas, y no hay pruebas que los relacionen como causas de pandemias.

Cada 2 ó 4 años aproximadamente se produce una epidemia de influenza — por virus tipo A, y cada 3 ó 6 años una causada por tipo B.

Los factores que intervienen en la periodicidad de las epidemias de influenza tipo A, son principalmente, la disminución de la inmunidad y la aparición de nuevas cepas virales. Una pandemia ocurra cuando se produce un — cambio antigénico importante del virus, la variación puede ser tal que la inmunidad existente resulta incapaz de evitar la infección por el nuevo virus.

Los virus de la influenza tipo A han sufrido 3 cambios antigénicos importantes que han causado las principales pandemias; El virus A y el subtipo — AO(HON1) que fueron los responsables de todas las infecciones presentadas entre 1933 y 1946; en 1947 apareció la cepa A1(H1N1), que suplantó a las cepas anteriores; en 1957 se hicieron predominantes los virus de la influenza — A2(H2N2) asiáticos y en 1968 se observó otro cambio antigénico que dió lugar a la aparición del virus A2(H3N2) de HongKong. (Dowdle W.A., 1979).

Los virus B también han experimentado variaciones antigénicas, aunque no tan extremas como las de los virus A; el virus B original prevaleció desde — 1936 a 1948, el B1 apareció en 1954 y en 1962 surgió la variante B2.

Los virus tipo C son los que con menor frecuencia causan influenza pero probablemente producen infecciones inaparentes.

Otros factores importantes en la aparición de la influenza son el clima y la edad, se ha observado que los brotes epidémicos son comunes desde principios del otoño hasta muy avanzada la primavera, presentandose los casos graves con mayor frecuencia entre los niños de 5 a 9 años y en las personas más ancianas.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN. La elevada frecuencia de infecciones leves, el breve periodo de incubación y la variabilidad antigénica de los virus, excluyen el uso eficaz de procedimientos para prevenir y controlar la influenza o

gripe. (Kilbourne E.D., 1969).

Los tipos de vacunas que se han utilizado para la influenza comprenden: las vacunas de virus inactivados o formolinizados, las de virus atenuados -- (seleccionados por pases sucesivos a bajas temperaturas), la vacuna preparada de subunidades virales (por ejemplo de hemoaglutinina), y también existen vacunas preparadas a partir de recombinantes genéticos de dos virus.

Las vacunas inactivadas son polivalentes ya que contienen mezclas de diferentes tipos, por ejemplo de A y B o de distintas variantes de un mismo tipo, por ejemplo A0 y A1. Los virus para estas vacunas se cultivan en embriones de pollo y después se inactivan con formol.

En general, el valor y efectividad de las vacunas se hallan limitados -- por varios factores: su aplicación produce efectos parecidos a los de una influenza leve; la protección es muy baja en cuanto al nivel de Acs que producen y los anticuerpos protectores disminuyen rápidamente en 3 a 6 meses después de la inmunización.

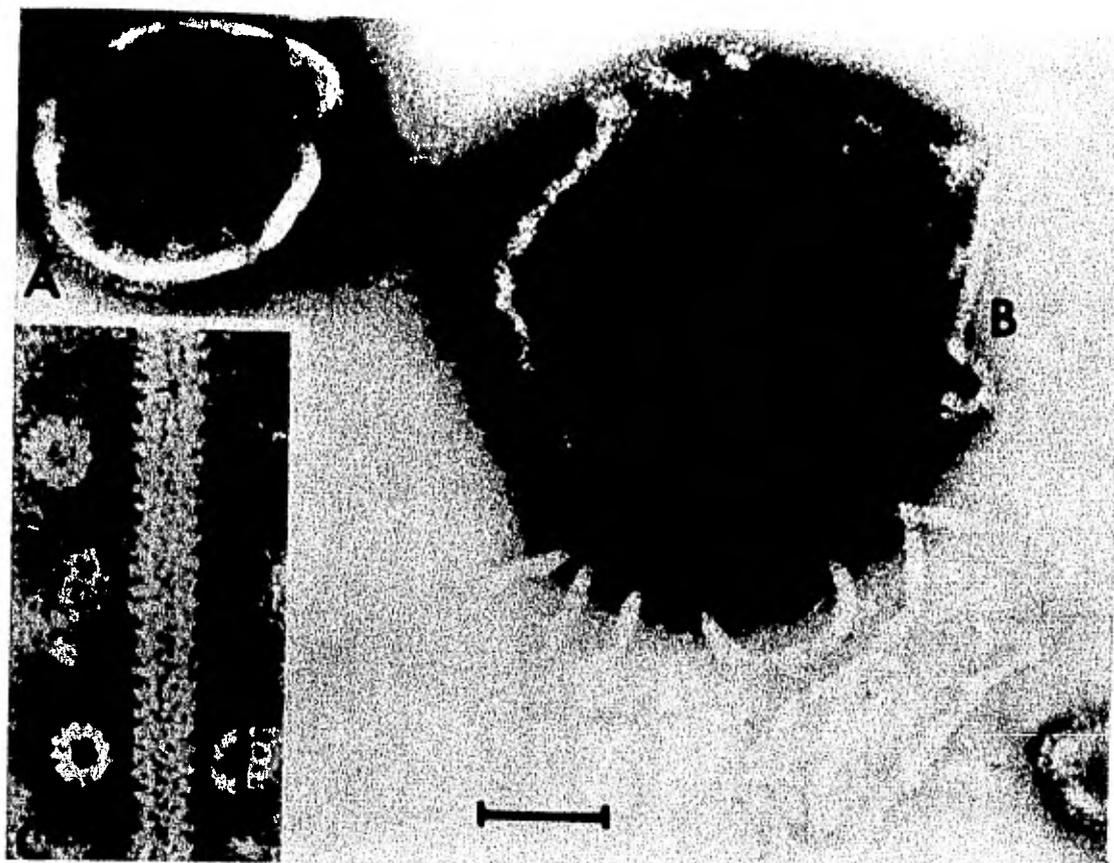
Puesto que la administración de las vacunas por vía intramuscular no induce una buena respuesta de anticuerpos, últimamente se ha desarrollado una vacuna de virus inactivados, cuya administración es por vía intranasal por medio de la cual se dá lugar a una respuesta de tipo IgA en las secreciones nasales y Acs específicos IgM e IgG en el suero. Con éste tipo de vacuna, se ha observado que hay menos efectos colaterales. La duración de los niveles de Acs cuando se administra la vacuna por instilación intranasal se relaciona con la edad, ya que en los niños, la respuesta es mayor que en adultos.

QUIMIOTERAPIA. El fármaco que ha probado ser de utilidad profiláctica -- contra la influenza es el clorhidrato de amantadina. Este fármaco ha resultado relativamente efectivo para la prevención de las infecciones por virus de la influenza A2. Sin embargo, su falta de acción sobre los virus del tipo B y sus efectos tóxicos neurológicos limitan su empleo clínico.

Se ha reportado también, la eficacia contra la influenza, de otro compuesto, la ciclocotilamina, administrada por vía intranasal.

BIBLIOGRAFIA

- Andrewes S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Ed. Baillieri Tindall and Co.Ltd. , London (1978).
- Dowdle Walter A. et.al.: Influenza viruses. In Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamidial Infections. pp.585 (E.H.Lennette and N.J. - Schmidt, eds.) American Public Health Association, Inc. Washington D.C.(1979).
- Jackson G.G. and Muldoon R.L.: Virus causing common respiratory infections in man. J. of Infect. Dis., 131(3): 308-342, (1975).
- Kilbourne E.J.: Influenza virus polipeptides and antigens--summary of influenza. J. Infect. Dis. 125: 447, (1972).
- Kilbourne, E.D.: Future influenza vaccines and the use of genetic recombinants. Bull WHO 41: 643, (1969).
- Hoyle L., Horne R.W., Waterson A.P.: The structure and composition of the mixo viruses. III.--The interaction of influenza virus particles with cytoplasmic particles derived from normal cells. Virology 17: 533 (1962).
- Laver W.G. and Webster R.G.: Studies on the origin of pandemic influenza. Virology 48: 445-455, (1972).
- Laver W.G. and Baker N.: Aminoacid composition of polypeptides from influenza virus particles. J. gen. Virol. 17: 61-67, (1972).
- Lazarowitz S.G. et.al.: Influenza virus structural and nonstructural proteins in infected cells and their plasma membranes. Virology 46: 830-843 (1971).
- Morgan: Immunologic methodology in influenza diagnosis and research. J. Infect. Dis. 126:219 (1972).
- Schulze I.T.: Structure of influenza. Virology 47: 181, (1972).
- Skohel J.J.: Polypeptide synthesis in influenza virus infected cells. Virology 49, 23-36, (1972).
- Virelizier : Host defenses against influenza virus: the role anti-hemagglutinin antibody. J. Immunology 115: 434, (1975).
- Webster, R.G. and Laver W.G.: Antigenic variation in influenza virus: Biology and Chemistry. Prog. Med. Virol. 13: 271, (1971).



PARAMIXOVIRUS : Virus de las paperas

A.-Intacto

B.-Destruído

C.-Porción de la nucleocápside

PARAMIXOVIRIDAE

CLASIFICACION. La familia Paramixoviridae comprende los tres géneros - siguientes:

P A R A M I X O V I R I D A E	Paramixovirus	Virus de la Parainfluenza (4 tipos)
		Virus de la Parotiditis
		Virus de la enfermedad de Newcastle
	Morbillivirus	Virus del Sarampión
		Virus de la morriña del ganado vacuno
		Virus del moquillo de los perros
	Pneumovirus	Virus de la peste del ganado caprino
		Virus Sincicial Respiratorio del hombre
		Virus Sincicial Respiratorio bovino
		Pneumovirus de ratones.

CRIPTOGRAMA: R/1; 5-8/0.9; S/E; V/O

PROPIEDADES GENERALES. Los virus de la familia Paramixoviridae muestran un pleomorfismo pronunciado y son mas grandes que los ortomixovirus, son esféricos, con un diámetro de 100 a 300 nm., pero se pueden deformar facilmente presentando formas filamentosas de aproximadamente 600 nm. Poseen una envoltura externa de alrededor de 100 Å de grosor, cubierta con proyecciones - que forman peplómeros de 12 a 15 nm de largo y 2 a 4 nm de ancho. La nucleocápside de estos virus es de simetría helicoidal, con un diámetro de 18 nm., un orificio central de 5 nm y la doble hélice que la forma tiene 15 subunidades estructurales por vuelta.

COMPOSICION QUIMICA. Solo unos pocos virus se han purificado, por lo que los estudios de composición química se ha realizado en los virus SV5, virus de la parainfluenza tipos 1 y 3 y el virus de la enfermedad de Newcastle. Se ha visto que el peso seco de estos virus tiene una composición de 0.9% de ARN, 70% de proteínas, 20 a 40% de lípidos y 6% de carbohidratos. La nucleocápside constituye el 20% de la masa del virus y contiene al ARN monocatenario, cuyo coeficiente de sedimentación es de 50 a 57 S y su densidad en CaCl es de 1.68 g/ml.

La cubierta de los paramixovirus contiene varios tipos de glicoproteínas, en dos diferentes tipos de peplómeros; los que contienen una gran gli-

coproteína (PM: 67 000 a 72 000) con actividad de neuraminidasa y hemoaglutinina, denominada "HN", esto a diferencia de los ortomixovirus en los que la hemoaglutinina y neuraminidasa se encuentran separadas y en diferente sitio; y los que no poseen glicoproteínas con actividad enzimática, sino una glicoproteína "precursora" denominada FO, ó los productos de la proteólisis de ésta: dos polipéptidos de PM 48 000 a 53 000 y 15 000 denominados respectivamente F1 y F2, y cuyo papel puede estar relacionado con la fusión de la membrana celular con la cubierta del virus en el momento de la penetración (Purnell W. Chopin, 1980).

Por otro lado los miembros del subgrupo de los morbillivirus no poseen neuraminidasa, aunque sí una proteína similar a la HN que ha sido designada como glicoproteína H.

Respecto a las proteínas internas de los virus, en la nucleocápside se encuentra un gran polipéptido "P" (PM: 70 000) asociado con la actividad de la ARN polimerasa, y en el lado interno de la cubierta, una proteína estructural "M" más pequeña, cuya función se sugiere sea la de un "mediador" para que la nucleocápside reconozca el sitio de la membrana plasmática donde se encuentran las glicoproteínas que formarán parte de la envoltura viral (Hara P. Ghosh, 1980).

Además se ha demostrado que existen otros polipéptidos menores que surgen del desdoblamiento de nucleoproteínas por el uso de la tripsina.

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS. Los miembros de la familia Paramixoviridae pierden su infectividad cuando se usan disolventes lipídicos, cuando se mantienen en un medio libre de proteínas a temperatura ambiente, o bien por calor, por el cual se pierde la actividad hemoaglutinante y neuramínica; son inestables a pH bajos y altos.

REPLICACION. El ciclo de replicación de la familia paramixoviridae es igual para todos los miembros de ella e igual al de los ortomixovirus de los que solo difieren en los siguientes aspectos: El ARN vírico está constituido por una sola cadena y NO se halla fragmentado; la replicación de estos virus tiene lugar enteramente en el citoplasma de la célula huésped y no requieren la participación del núcleo celular; por último el tiempo que transcurre entre el momento de la infección y la aparición de nuevas partículas virales es diferente.

Una vez sintetizadas en el citoplasma todas las proteínas estructurales del virus, la nucleocápside se autoensambla y migra hacia los segmentos de la membrana celular que han sido modificados por la adición de las glicoproteínas específicas del virus y que formarán parte de la cubierta viral. La nucleocápside una vez ensamblada al complejo proteico presiona sobre estos sitios y mediante un proceso de gemación se liberan las partículas virales completas.

VIRUS DE LA PARAINFLUENZA.

Los virus de la parainfluenza fueron aislados en 1956 de ratones de laboratorio e identificados como el agente causal de ciertas infecciones respiratorias en el hombre. Existen 4 tipos de los virus de la parainfluenza que infectan al hombre, denominados tipos 1, 2, 3 y 4. Además se ha clasificado también como virus de la parainfluenza, el virus Sendai, que afecta a ratones y cerdos y está relacionado con el tipo 1, y los virus SV5 y SV41 que atacan a simios y se relacionan con el tipo 2.

Los virus de la parainfluenza son inestables a 37°C, la rapidez de la inactivación está marcadamente influenciada por la presencia de ciertas proteínas en el medio de suspensión, por ejemplo, se pueden conservar sin perder su infectividad por algunos años a -60°C si el medio contiene 0.5% de albúmina sérica bovina ó 5% de suero de pollo. Se inactivan rápidamente a pH 3 y por exposición al éter durante 18 horas, lo que indica que la capa lipídica es esencial para la integridad del virus.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. No se conoce ningún antígeno común a todos los virus de la parainfluenza, ni se observa en ellos la variabilidad antigénica de los ortomixovirus. Los cuatro serotipos diferentes que existen están basados en dos antígenos específicos: un antígeno de superficie (hemoaglutinina) y un antígeno interno o de la nucleocápside. Dichos serotipos se distinguen por reacciones de fijación del complemento, neutralización o inhibición de la hemoaglutinación; los tipos 1, 2 y 3 se consideran antigenicamente estables y homogéneos, pues no existen subtipos de ellos, el tipo 4 sin embargo, posee dos subtipos, el A y el B, que se detectan por IH o neutralización en cultivos celulares.

Existe cierta relación inmunológica cruzada entre los distintos tipos, así, en individuos previamente infectados con una cepa determinada, se encuentra respuesta de anticuerpos heterotípicos.

El antígeno de superficie, la hemoaglutinina, es responsable de que estos virus sean capaces de aglutinar eritrocitos de algunas especies, por ej. los parainfluenza tipo 1 y 3 aglutinan eritrocitos humanos tipo "O" y a los de cerdo a bajas temperaturas, los tipo 2 aglutinan mejor los eritrocitos de pollo que los humanos; a un pH de 8, los de tipo 4 pueden aglutinar los eritrocitos de cerdo a 4°C y a temperatura ambiente pero no a 37°C.

Por último a diferencia de los ortomixovirus, poseen una hemolisina — que se inhibe por sueros específicos y se puede liberar del virus, lo mismo que la hemoaglutinina, mediante tratamiento con éter.

PATHOGENESIS. Los virus de la parainfluenza se transmiten directamente de persona a persona por vía aérea y no hay evidencia de que la infección se transmite de animales al hombre o viceversa. La infección inicial tienen lugar en las mucosas de la nariz y garganta pudiendo presentarse obstrucción de los senos paranasales y de la trompa de Eustaquio. En los niños y adolescentes se afectan en ocasiones los bronquios, bronquiolos y pulmones, y aunque generalmente las afecciones que producen estos virus son benignas, pueden presentarse, en niños principalmente, cuadros como el crup, neumonía o laringotraqueobronquitis, ocasionados por los tipos 1 y 2.

La viremia al igual que en la influenza, no es una fase esencial. El período de incubación en adultos es de 3 a 6 días y en niños de 2 a 4 días.

Las manifestaciones clínicas que se pueden presentar en infecciones por virus de la parainfluenza son: la bronquitis aguda, que tiene como signos importantes la tos seca y fiebre; el Crup, que dá origen a un cuadro grave en los niños, en los cuales se presenta inicialmente una infección de las vías respiratorias superiores, presentandose más tarde problemas laringeos y traqueales. El inicio del cuadro consiste en un aumento brusco de la temperatura (38-39°C) pudiendo presentarse durante la crisis un paro respiratorio y convulsiones; la bronquiolitis aguda se manifiesta en algunos casos de crup en los que los pacientes no se recuperan, presentando la misma sintomatología solo que con tos seca y disnea progresiva. Los casos de muerte se deben a las complicaciones entre las que se encuentran neumonía bacteriana, insuficiencia cardíaca, otitis y deshidratación.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico de laboratorio de las infecciones por virus de la parainfluenza se puede establecer por valoración de un aumento de anticuerpos en el suero por IH o fijación del complemento, sin embargo, para establecer con seguridad la etiología es necesario aislar al agente causal; para esto las muestras empleadas pueden ser lavados o secretiones faríngeas, que se inoculan en huevos embrionados en la cavidad amniótica alantoidea o en el saco vitelino. También se emplean cultivos celulares, — por ejemplo, el tipo 1 se cultiva en células de riñón de mono o tejido em— brionario de pollo, los tipos 2 y 3 pueden cultivarse en células HeLa, am— nio humano o de pulmón embrionario y el tipo 4 en células de riñón de mono. (G.D. Hsiung).

Estos virus generalmente no causan un ECP inmediato por lo que la mejor prueba para detectarlos es la hemoadsorción, sin embargo los tipos 1 y 4 después de varios pases producen inclusiones eosinófilas intracitoplásmicas y — un escaso redondeamiento y destrucción de las células. El tipo 2 se reconoce por su ECP que se caracteriza por la formación de sincicios granulares oscuros. El ECP que produce el tipo 3 se reconoce porque provoca que la célula infectada se separe de la capa celular y adopte una forma elongada. Los tipos 2 y 3 producen sincicios en líneas celulares como HeLa, KB y Hep-2. — Las pruebas de hemoadsorción se pueden hacer 5 días después de la inoculación para los tipos 1 y 3, y después de 10 o mas días para los tipos 2 y 4.

EPIDEMIOLOGIA. Los virus de la parainfluenza se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo. Las infecciones se producen en cualquier época — del año pero la mayor incidencia se presenta en invierno, afectando principalmente a los niños. El virus de la parainfluenza tipo 3 es el que generalmente infecta al hombre durante los 2 primeros años de edad, encontrándose a partir de ésta etapa anticuerpos neutralizantes contra este virus. Los tipos 1 y 2 se presentan entre los 9 y 10 años de edad, dando lugar así a la formación — de anticuerpos contra los tres tipos de virus. Aunque el tipo 4 frecuentemente causa infecciones clínicas graves, también se adquieren anticuerpos durante la niñez. Estos anticuerpos neutralizantes no evitan la reinfección pero si disminuyen la gravedad.

PREVENCIÓN Y CONTROL. No se conoce ningún tratamiento específico. En la actualidad se dispone de vacunas de virus inactivado con formol administradas por vía intranasal y se encuentra en estudio la elaboración de vacunas —

con virus atenuados. Aunque la protección por medio de vacunas, reduciría muy poco la incidencia global de enfermedades respiratorias, resultaría muy útil una vacuna que provocara una respuesta inmune en el aparato respiratorio para proteger a niños de corta edad, especialmente en hospitales, guarderías y escuelas .

VIRUS DE LA PAROTIDITIS.

La parotiditis es una enfermedad que se conoce desde la antigüedad, se le llama también paperas o parotiditis epidémica y su agente etiológico se aisló e identificó en 1934, pero fué hasta 1945, cuando se cultivó en huevos embrionados, que pudo comprenderse su acción patógena y los aspectos inmunológicos de la enfermedad.

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS. El virus de la parotiditis es relativamente estable, su infectividad no se altera cuando se almacena a 4°C por varios días, a -20°C durante semanas o bien, a -50°C ó -70°C si se va a conservar durante varios meses. Su estabilidad aumenta si se adiciona albúmina sérica bovina o gelatina, etc. La infectividad de estos virus se puede destruir por exposición al éter, 0.1% de formalina, luz UV, betapropiolactona y ácido nítrico, sin embargo después de estos tratamientos conservan su antigenicidad. (Kari Cantell, 1961).

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Solo se conoce un serotipo del virus de las paperas y no tiene variantes antigénicas. Posee dos antígenos fijadores del complemento correspondientes al antígeno de la nucleocápside o AgS y al antígeno de la envoltura o AgV. En el hombre los anticuerpos contra el AgS aparecen antes que los anticuerpos contra el AgV pero decaen primero. Se presentan reacciones cruzadas con los virus de la influenza, parainfluenza y enfermedad de Newcastle. Esta reactividad cruzada se produce en el organismo a nivel de las inmunoglobulinas IgM y también se observa en las pruebas de fijación del complemento e inhibición de la hemoaglutinación.

La actividad hemoaglutinante está asociada con el AgV y puede ser inhibida por ciertas sustancias inespecíficas que se encuentran en tejidos y fluidos animales.

Los virus pueden aglutinar los eritrocitos de pollo, humanos y otras especies a cualquier temperatura entre 4°C y 37°C. Se adsorben con difícil-

ta^d sobre las células y una vez adsorbidos es difícil eluirlos. La hemoadsorción es un índice mas sensible de la actividad viral que la hemoaglutinación.

Por otro lado, los virus en altas concentraciones, poseen actividad hemolítica y fué en estos virus en los que se observó por primera vez la presencia de una hemolisina (Morgan, 1948).

PATOGENESIS. El virus de la parotiditis se trasmite de un individuo a otro por medio de la saliva. La transmisión puede ser de manera directa, -- por las gotitas de saliva (flugge) o por fomites contaminados con la saliva. El virus de las paperas penetra al organismo por la vía respiratoria, siendo ésta y los ganglios linfáticos adyacentes los sitios primarios de multiplicación. Posteriormente se presenta una fase de viremia por medio de la cual se disemina a las glándulas salivales (parótidas) y también a las meninges, pancreas, testículos y ovarios.

Típicamente, la parotiditis se presenta en los niños como una infección inflamatoria aguda de las parótidas, que aparece después de un periodo de incubación de 16 a 20 días y se acompaña de síntomas como fiebre, escalofríos y dolor de garganta y oídos. Suelen presentarse algunas complicaciones como son la orquitis, ooforitis, meningoencefalitis y en ocasiones pancreatitis, pudiendo aparecer al mismo tiempo que la parotiditis o aún en ausencia de ella. El virus se encuentra en la saliva, sangre y orina durante todo el proceso infeccioso, se puede aislar de la saliva 2 o 3 días antes y 5 a 7 después de la aparición de la enfermedad; se encuentra en la sangre durante los primeros 3 a 5 días y en la orina después del 5o. y hasta el 15o. día de iniciada la enfermedad.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. Las muestras empleadas son saliva y orina, -- las cuales si no se inoculan inmediatamente, deben guardarse a -70°C . Las muestras se inoculan en la cavidad amniótica de huevos embrionarios de 7 a 8 días incubándose a 35°C durante 4 o 5 días. Posteriormente se cosecha el líquido de la cavidad amniótica, pudiendo detectarse los virus por pruebas de hemoaglutinación y/o inhibición de la hemoaglutinación. Pueden inocularse -- también cultivos de células tales como: células de riñón de mono, HeLa, WI38 y Hep-2 (G. Hsiang), y después de incubarlos a 37°C , 6 o 7 días, se identifica el virus por pruebas de hemoadsorción o por el ECP, que consiste en la a-

parición de inclusiones citoplásmicas acidófilas y la formación de sincicios.

El diagnóstico serológico se establece mostrando un aumento del título de anticuerpos mediante pruebas de fijación del complemento e IH.

EPIDEMIOLOGIA. Las paperas existen en todo el mundo y el único huésped natural es el hombre, siendo los niños los más sensibles. Aparece principalmente durante el invierno y principios de la primavera, aunque se puede presentar durante todo el año.

La parotiditis no es tan contagiosa como las otras enfermedades de la infancia (por ej. sarampión y varicela) y muchos niños escapan a la infección, de aquí que la enfermedad se pueda presentar en adultos, sin embargo los niños que sufren la infección adquieren inmunidad duradera, por lo que la ooforitis y la orquitis aparecen generalmente en los individuos adultos que no padecieron la enfermedad durante la infancia.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN. Como las paperas cursan en los niños con un cuadro benigno, no se lleva a cabo una inmunización activa de rutina. Sin embargo se recomienda efectuar la vacunación en el momento de la pubertad si no existen antecedentes clínicos de la infección y en adultos que carecen de anticuerpos humorales contra el virus, en los que la enfermedad es más grave y las complicaciones más frecuentes; está contraindicada en niños menores de un año.

La vacuna que se aplica es de virus vivos atenuados por pases sucesivos en embriones de pollo y una sola dosis aplicada por vía subcutánea confiere una protección del 95%, persistiendo los anticuerpos por lo menos 5 años, además en individuos que han estado expuestos al virus, se puede prevenir o atenuar la enfermedad mediante administración de gamma globulina hiperinmune.

VIRUS DEL SARAMPIÓN

PROPIEDADES GENERALES. Los virus del sarampión son generalmente esféricos con un diámetro de 120 a 300 nm., aunque se pueden observar también formas filamentosas. Poseen una nucleocápside helicoidal de 15 a 19 nm., de diámetro, contenida dentro de una envoltura cubierta de peplómeros.

Su genoma está constituido por una cadena simple de ARN, rica en uracilo, con un PM de 6×10^6 d., y con un coeficiente de sedimentación de 50 S.

Su composición protéica es similar a la de los paramixovirus, contienen de 6 a 8 polipéptidos estructurales con un PM de 40 000 a 80 000, su envoltura es de naturaleza lipoprotéica, poseen una hemaglutinina y carecen de neuraminidasa.

Los virus del sarampión tienen una densidad en CsCl de aproximadamente 1.24 g/ml., y un coeficiente de sedimentación de 200 a 300 S, son estables a un pH entre 5 y 9 durante 3 horas y a 0°C. Se inactivan en 4 días a 37°C con formalina diluida, con luz UV, desoxicolato de sodio, etc. También se inactivan rápidamente con luz visible en ausencia de proteínas estabilizadoras.

La infectividad se pierde a 56°C o a temperatura ambiente en 3 a 5 días, son sensibles a solventes orgánicos. Se pueden almacenar hasta por 18 meses en refrigeración, liofilizados y conteniendo una proteína estabilizante en la suspensión.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Todas las cepas que se han estudiado pertenecen a un solo tipo antigénico y a pesar de su similitud morfológica no existe relación antigénica del virus del sarampión con los paramixovirus.

Se pueden separar de la partícula viral un antígeno soluble fijador del complemento que se encuentra en la nucleocápsida, una hemolisina y una hemaglutinina.

Los virus del sarampión son capaces de aglutinar eritrocitos de mono a 37°C y no se eluyen espontáneamente de las células aglutinadas puesto que los virus no contienen neuraminidasa.

La hemolisina no solo hemoliza los hematíes de mono, sino que además, induce la fusión de las células del cultivo celular, es decir, dá lugar a la formación de células gigantes multinucleadas (Hall y Martin, 1974).

PATOGENESIS. El sarampión es una enfermedad exantemática muy contagiosa, que se transmite por las secreciones conjuntivales y respiratorias. El virus penetra al organismo por el tracto respiratorio, se multiplica en el epitelio de dichas vías y en el tejido linfoide regional, diseminándose posteriormente por vía sanguínea (viremia) hasta el tejido linfoide distante y algunos órganos.

La multiplicación del virus en las vías respiratorias origina, después del periodo de incubación de 10 a 12 días, los síntomas prodrómicos de malestar general, conjuntivitis, tos seca, irritación faríngea, fiebre (39-40°C) y manchas de Koplik, que son minúsculas manchas rojas con un centro blanco, localizadas en la mucosa bucal. Con la multiplicación generalizada del virus se intensifican estos síntomas y aparece la erupción roja maculopapular típica, primero en la cabeza y cara y a continuación en el tronco y extremidades.

Los virus del sarampión pueden multiplicarse también en los linfocitos humanos, lo cual sugiere que éstas células desempeñan un papel en su diseminación en el cuerpo y en la patogénesis de la enfermedad, y quizá esto sea la causa de la leucopenia que se observa en la fase prodrómica.

Las lesiones, junto con la fiebre y el malestar, desaparecen al cabo de 3 o 4 días en el mismo orden en que se manifestaron. El virus se excreta por las secreciones del aparato respiratorio y oculares, así como por la orina, durante la fase prodrómica y dos días después de la aparición del exantema.

El sarampión suele ser una enfermedad benigna, de terminación espontánea, sin embargo, la multiplicación del virus en las vías respiratorias puede dar lugar a Crup, bronquitis o bronquiolitis, debiéndose la mayor parte de los casos graves a infecciones bacterianas que acompañan al cuadro viral y pueden producir otitis media y neumonía. La encefalitis es la complicación más grave, pero afortunadamente su frecuencia es muy baja en la mayoría de las epidemias (aproximadamente 1 en 10 000 casos); se presenta de 5 a 7 días después del exantema y es mortal en el 10% de los casos, los pacientes que sobreviven sufren daño permanente en el sistema nervioso central, presentando por ejemplo epilepsia, parálisis, etc.

Además el virus del sarampión parece ser la causa de la Panencefalitis esclerosante subaguda, que es un trastorno degenerativo crónico muy raro, — que puede evolucionar durante varios años después de un caso típico de sarampión no complicado. Existen evidencias que relacionan al virus del sarampión con ésta enfermedad, por ejemplo: el aumento del título de anticuerpos anti-sarampión, la presencia de inclusiones nucleares y citoplásmicas características en las células cerebrales de los pacientes, en las que también se ha podido detectar al virus por inmunofluorescencia. El virus del sarampión también se ha asociado con esclerosis múltiple y lupus eritematoso. En la esclerosis, el suero del paciente presenta un título alto de anticuerpos contra el sarampión, y en el lupus eritematoso se ha detectado el virus en biopsias y riñones extirpados de pacientes, situación que hasta el momento no ha podido ser explicada.

El rasgo predominante en la patología del sarampión es la formación de células gigantes multinucleadas que reciben el nombre de células de Warthin-Finkeldey, algunas de las cuales llegan a tener 70 a 100 núcleos, con inclusiones nucleares y citoplásmicas eosinófilas.

Estas células características se encuentran en secreciones nasales durante la fase prodrómica de la enfermedad, así como en el tejido linfóide - del tubo digestivo, principalmente en el apéndice y se han observado también en el esputo de pacientes con bronconeumonía.

Las lesiones de piel y mucosas que aparecen durante la infección pueden ser de etiología viral, o bien deberse al efecto de complejos inmunes formados por el virus y los anticuerpos.

Las manchas de Koplik se producen por una infiltración inflamatoria de células mononucleares en las glándulas de la submucosa. La erupción se debe a la proliferación del endotelio capilar con exudación de suero hacia la epidermis, de modo que las células epiteliales presentan vacuolas, se necrosan y forman las vesículas.

INMUNIDAD. Los virus del sarampión confieren una inmunidad duradera. - Los anticuerpos circulantes aparecen de 10 a 14 días después de la infección es decir, cuando se presenta el exantema, y alcanzan el título máximo, cuando éste desaparece. El título de anticuerpos neutralizantes, fijadores del complemento e inhibidores de la hemoaglutinación, se mantiene alto a partir de la segunda semana, persistiendo la inmunidad durante toda la vida, como lo demuestran las investigaciones seroepidemiológicas.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico del sarampión generalmente - se hace con base al cuadro clínico característico, y la confirmación por el - laboratorio se realiza con fines de investigación o en aquellos casos de - adultos en los que la enfermedad es más grave y el diagnóstico difícil.

Durante la fase prodrómica se puede establecer un diagnóstico rápido y sencillo demostrando la presencia de las células "Warthin- Finkeldey " - en muestras de células de la mucosa nasal; también se han utilizado técnicas de "inmunofluorescencia para identificar antígenos virales específicos procedentes de la mucosa nasal y conjuntiva.

El diagnóstico serológico puede hacerse titulando los anticuerpos tanto en la fase aguda como en la convalescente mediante pruebas de neutraliza - - ción, fijación del complemento o IH.

El diagnóstico definitivo puede hacerse por aislamiento del virus en - - cultivos de células a partir de secreciones de nasofaringe o conjuntivales, sangre u orina, tomadas durante la fase prodrómica de la enfermedad, aunque aislar al virus a partir de estas muestras es muy difícil, por lo que no es un procedimiento diagnóstico de rutina.

El aislamiento se puede realizar en cultivo primario de riñón de mono o riñón humano y en líneas celulares como Hep-2. El ECP consiste en la aparición de células gigantes multinucleadas con inclusiones eosinófilas nucleares y citoplásmicas, rodeadas de una zona clara o halo, y pueden presentarse también células estrelladas o fusiformes con inclusiones eosinófilas.

EPIDEMIOLOGIA. El sarampión es endémico en el mundo entero pudiendo presentarse en cualquier época del año aunque es más común al final del invierno. El huésped natural es el hombre y puede transmitirse a monos. Es esencialmente una enfermedad infantil, aunque puede afectar también a adultos.

Las epidemias en países desarrollados se presentan cada 2 o 3 años y en países subdesarrollados ocurren anualmente, debido a la aparición continua de población infantil susceptible de contraer la enfermedad.

En regiones aisladas donde el sarampión no es endémico, la introducción del virus origina la infección en adultos tanto como en niños y por lo tanto la morbilidad y mortalidad son muy altas debido a complicaciones que suelen presentarse en los adultos.

En México, en el año de 1980 se presentaron un total de 16 412 casos, - siendo el D.F. y los estados de Coahuila y Tamaulipas en los que hubo una mayor incidencia. (Bol. Epidemiológico de la SSA, Vol. 1-No. 19, Dic. 1981).

CONTROL Y PREVENCIÓN. No se conoce ningún tratamiento específico contra el sarampión.

En cuanto a medidas profilácticas existen las vacunas de virus muertos, que actualmente no se recomiendan, la vacuna de virus inactivados con formol, que aunque induce una buena respuesta inmune, confiere solo una protección temporal de 3 a 6 meses, y la vacuna de virus vivos atenuados, que resulta muy eficaz y es la que se emplea en la República Mexicana. Esta vacuna se administra en una sola dosis y puede ir sola o combinada con las vacunas de rubéola y anteriormente con la de la viruela, sin que haya interferencia en la respuesta para cada una (C. Ristoria et al 1969).

La vacunación se recomienda en los niños mayores de 9 a 12 meses ya que si se realiza antes, los anticuerpos maternos interfieren y disminuyen la eficacia de la vacuna, haciéndose necesario en estos casos una revacunación.

La vacuna confiere una protección por lo menos de 4 a 5 años, pero si durante este periodo se tiene contacto con cepas silvestres del virus o se -

padece infecciones subclínicas, estos factores evitan que el título de anticuerpos disminuya originándose así una inmunidad duradera. Esto se observó en un estudio comparativo entre niños que vivían en guarderías, libres de contactos con cepas naturales del virus, y otros que estaban en medios en los cuales recibían nuevos estímulos inmunológicos. En los primeros los títulos de anticuerpos descendieron considerablemente.

Por otro lado en México, a principios de 1976, se observó un brote epidémico entre una población que ya había sido vacunada, encontrándose que esto se debía a que gran parte (50%) de los niños había recibido la vacuna antes del año de edad y otro grupo de esta misma población había recibido simultáneamente la vacuna y gamma globulina (Sanchez R y col. 1977) la cual interfería con la respuesta que induce la vacuna, haciéndola por lo tanto ineficaz; sin embargo la aplicación de la gammaglobulina se recomienda en aquellos casos en los que la vacunación está contraindicada, por ejemplo, en mujeres embarazadas, pacientes inmunosuprimidos, etc., o para disminuir los efectos secundarios que la vacuna produce.

VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO.

PROPIEDADES GENERALES. El virus sincicial respiratorio fué aislado por Morris en 1956 de un chimpancé con infección de las vías respiratorias superiores y más tarde se observó que también era capaz de infectar al hombre, siendo actualmente una causa importante de infecciones graves en las vías respiratorias bajas de los niños lactantes.

El virus sincicial respiratorio (VSR), aunque se ha clasificado dentro de la familia paramixoviridae y en general sus propiedades bioquímicas y morfológicas son similares a las de los demás miembros, difiere de estos en varios aspectos.

Los virus son pleomórficos y presentan formas filamentosas. Su diámetro puede medir de 80 a 400 nm., la nucleocápside helicoidal mide 14 nm., de diámetro y está envuelta dentro de una cubierta con proyecciones de 12 nm., de largo, pero estas estructuras carecen de hemoaglutinina y neuraminidasa. Tienen una densidad de flotación de 1.22-1.24g/ml., y son sensibles a disolventes lipídicos y a la tripsina. Son inestables a 37°C ya que a ésta temperatura conservan solo por poco tiempo (horas) su infectividad, asimismo a 4°C pierden rápidamente su poder infectivo por lo que para conservarlo, debe congelarse rápidamente en presencia de proteínas o suero y almacenarse a

-70°C. Se inactivan a pH de 3 y son resistentes a procesos de congelación-descongelación.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. El VSR además de carecer de hemoaglutininas y neuraminidasas, tampoco posee actividad hemolítica ni hemoadsorbente, pero sí posee los antígenos específicos de superficie y nucleocápside y también dos antígenos "fijadores del complemento" denominados A y B que se forman durante la infección a células sensibles (Ben R. Forsyth y Helen V. Coates, 1966). En cuanto a la variación antigénica, aunque no todas las cepas son iguales, ya que se han observado por lo menos tres variantes, éste cambio no es significativo ya que las diferencias en el antígeno de superficie solo se reconocen mediante pruebas muy sensibles de neutralización.

PATOGENESIS. El VSR se adquiere por vía aérea e infecta el tracto respiratorio provocando su inflamación. En adultos la infección generalmente se limita a éste nivel, pero en los niños menores de un año, el virus puede propagarse a los bronquios, bronquiolos y parénquima pulmonar provocando en algunos casos la muerte. Conforme aumenta la edad, las infecciones suelen ser más benignas dando lugar a un cuadro similar al de un resfriado común, siendo el periodo de incubación de 3 a 7 días y manifestandose los síntomas durante 10 a 14 días. (Marc Been, 1969).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. Dado que el virus es extraordinariamente lábil, las secreciones nasales o faringéas deben inocularse inmediatamente después de su toma. Pueden emplearse cultivos de células como KB, HeLa, Hep-2 o células de riñón de mono; en caso contrario deben congelarse rápidamente a -70°C, añadiendo a las suspensiones del virus, suero o albúmina.

Entre los 2 a 14 días después de la inoculación se pueden observar las células gigantes características (sincicios) e inclusiones citoplásmicas eosinófilas.

El VSR aislado, o bien su antígeno se pueden identificar por pruebas de fijación del complemento, neutralización o inmunofluorescencia.

En cuanto al diagnóstico serológico, los métodos de fijación del complemento o neutralización resultan adecuados y económicos, salvo para los niños de corta edad que pueden presentar un título no detectable de anticuerpos por éstas técnicas, recomendandose entonces el aislamiento del virus.

EPIDEMIOLOGIA. Las infecciones por VSR presentan una distribución mundial, lo cual dá lugar a epidemias anuales, durante el otoño e invierno. El virus se trasmite entre los individuos de una comunidad, quedando así la epidemia circunscrita a esa población y desapareciendo en un periodo relativamente breve. Los brotes se observan especialmente en los niños pequeños y las primas infecciones aparecen durante las etapas iniciales de vida, en las que dan lugar a cuadros clínicos más severos.

La duración de las epidemias depende del tamaño de la población involucrada, por ejemplo, prevalecen de 2 a 3 meses en grandes zonas urbanas y al rededor de 2 a 3 semanas en comunidades más pequeñas.

PREVENCIÓN Y CONTROL. No existe vacuna o medidas preventivas efectivas, ni tratamientos específicos para las infecciones producidas por el VSR, sin embargo, puesto que los VSR ocupan un lugar importante como causa de procesos respiratorios graves en niños pequeños, se ha tratado desde hace tiempo de preparar una vacuna efectiva; se ha observado, hasta el momento, que las vacunas de virus inactivados no brindan resultados favorables, también se han estudiado mutantes sensibles a la temperatura, los cuales parecen genéticamente estables y cuando se probaron en adultos indujeron una buena respuesta inmune, pero el inconveniente es que estos mutantes no han sido suficientemente atenuados como para emplearse en los niños.

BIBLIOGRAFIA

Andrewes S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Ed. Baillieri Tindall and Co. Ltd., London (1978).

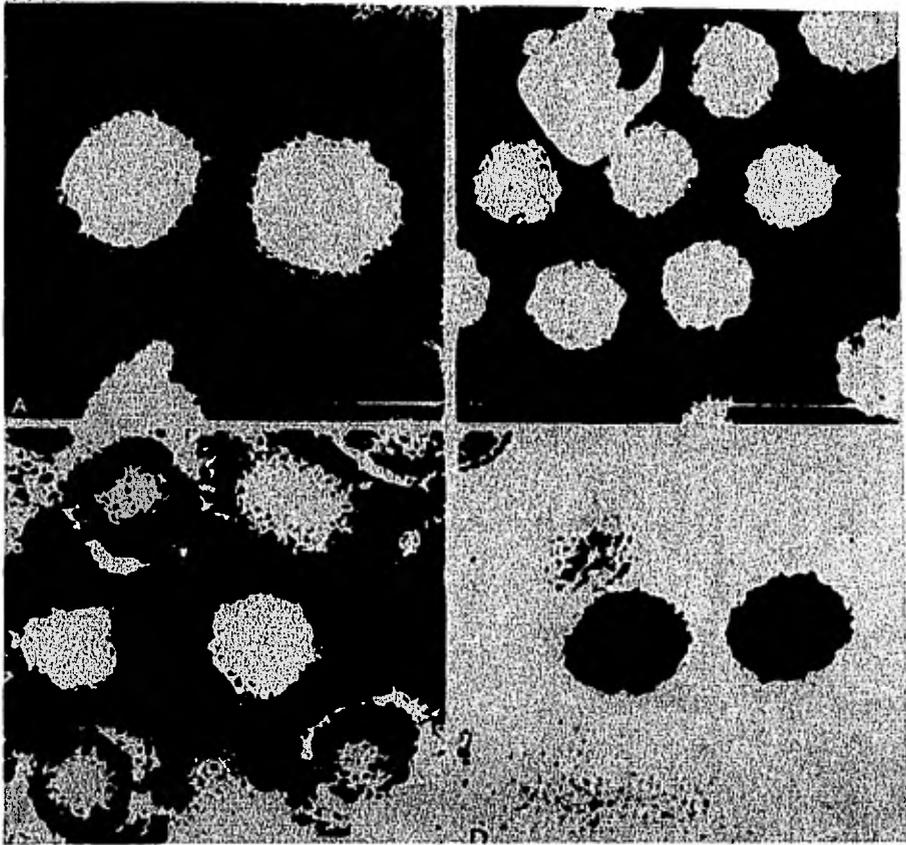
Beem M. and Hamre: Respiratory syncytial virus. In Diagnostic Procedures for viral and rickettsial Infections. pp 490. (E.H. Lennette and N.J. Schmidt, eds.) American Public Health Association, New York, 1969 .

Cantell Kari.: Mumps virus. Adv. virus Res. 8: 123, (1961).

Chanock M. Robert M.D.: Parainfluenza virus. In Diagnostic procedures for viral, Rickettsial and Chlamidial Infections. pp. 611 (E.H. Lennette and N.J. Schmidt, eds.) American Public Health Association Inc. Washington D.C. (1979).

Chen, C.: Parainfluenza virus surface projections: glycoproteins with haemagglutinin and neuraminidase activities. J.Gen.Virol. 11: 53 (1971).

- Enders J.F.: Measles virus: Historical review, isolation and behavior in various systems. Am. J. Dis. Child. 103: 219, (1962).
- Forsyth B.K. et.al.: Biophysical studies of respiratory syncytial virus. J. of Bact. 91(3): 1270-1276, (1966).
- Freeman: Serological studies on 40 cases of mumps virus infection. J. clin. Pathol. 33(1): 28-32, (1980).
- Gershon Anne A. and Saul Krugman: Measles. In Diagnostic procedures for viral rickettsial and chlamidial infections. pp 665. (E.H.Lennette and N.J.Schmidt, eds.) American Public Health Association Inc. Washington D.C. (1979).
- Gunby P.: Atypical mumps may occur after immunization. JAMA 243(23) :2374-2375, (1980).
- Hall W.W. and Martin S.J.: The biochemical and biological characteristics on the surface components of measles virus. J. gen.Virol. 22: 363-374, (1974).
- Hope E. Hopps and P.D. Parkman: Mumps virus. In Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamidial infections. pp. 633 (E.H. Lennette and N.J. Schmidt, eds.) American Public Health Association Inc. Washington D.C.(1979).
- Hsiung G.D.: Laboratory diagnosis of viral infections: general principles and recent developments. Mt. Sinai J. Med. N.Y. 44(1): 1-26, (1977).
- Klenk H.D. et.al.: Plasma membrane lipids and parainfluenza virus assembly. Virology 40: 939, (1970).
- Krugman S. : Present status of measles and rubella immunization in the USA: a medical progress report. J. Pediatr. 78:1, (1971).
- Morgan:H.R. and J.F. Enders,P.F.Waley: A hemolysin associated with the mumps virus. J. Exp. Med. 88: 503 (1948).
- OMS. Serie de informes técnicos No. 325, (1966). Vacunas humanas de virus y rickettsias.
- Sánchez L. y cols.: Qué pasa con la vacuna de sarampión en México. Bol. Med. del hospital infantil. Vol.XXXIV No, 2, pp.291 (1977).
- Ruiz-Gómez J. y cols.: Respuesta a la vacuna antisarampionosa al ser aplicada en diferentes edades. Bol. de la of. sanit. Panam. (1977):
- Ristori C. y cols. : Vacunación combinada contra el sarampión y viruela. Bol. de la of. sanit. panamericana, (1969).



Togavirus

TOGA VIRIDAE

CLASIFICACION. El grupo de los arbovirus, en una nueva clasificaci3n, ha quedado incluido dentro de varias familias, con base en sus caracteristicas morfol3gicas, propiedades bioquimicas y fisis. Sin embargo, el nombre de "arbovirus" se puede seguir usando en su sentido biol3gico para designar a aquellos virus que se transmiten por artr3podos. En los artr3podos, los virus se multiplican, pero no causan enfermedad o da1o aparente, actúan exclusivamente como vectores para infectar a los vertebrados, algunos de los cuales actúan unicamente como reservorios, mientras que en otros se manifiesta claramente la enfermedad.

El nombre de "Togavirus" se propuso para abarcar a los grupos A y B de los arbovirus, y ahora se ha reconocido oficialmente a la familia Togaviridae como aquella que incluye los siguientes géneros:

T O G A V I R I D A E	}	ALFAVIRUS (gpc. "A" de arbovirus)	{ <ul style="list-style-type: none"> EEE.- Virus de la Encefalitis Equina del Este EEO.- Virus de la Encefalitis Equina del Oeste EEV.- Virus de la Encefalitis Equina Venezolana Virus Sindbis Virus del bosque de Semliki
		FLAVIVIRUS (gpc. "B" de arbovirus)	{ <ul style="list-style-type: none"> Virus de la Fiebre Amarilla Virus del Dengue Virus de la Encefalitis de San Luis Virus de la Encefalitis del Valle de Murray Virus de la Encefalitis Japonesa Virus de la Fiebre del Oeste del Nilo
		RUBIVIRUS	{ <ul style="list-style-type: none"> Virus de la Rubéola
		PESTIVIRUS	{ <ul style="list-style-type: none"> Virus de bovinos Virus del cólera de cerdos
		POSIBLES GENEROS	{ <ul style="list-style-type: none"> Virus de la artritis Equina Virus LDH Virus de la Fiebre hemorrágica de los monos

CRIPTOGRAMA. R/1; 3-4/4-7; S/S; V/in,di,Ac.

PROPIEDADES GENERALES. Los miembros de la familia Togaviridae presentan una forma aproximadamente esférica, tienen un tamaño que varía de 30 a 80 nm de diámetro para los alfavirus, flavivirus y pestivirus, y de 50 a 90., para

los rubivirus, virus LDH y EA.

Poseen una cubierta lipídica con peplómeros, dentro de la cual se encuentra la nucleocápside de simetría icosaédrica, contorno hexagonal y diámetros relativamente uniformes, que varían de 30 a 40 nm., para los alfavirus, flavivirus y rubivirus, y de 20 a 30 nm., para los pestivirus, virus-LDH y EA. Las nucleocápsides están formadas de 32 a 92 capsómeros que miden de 12 a 14 nm.

Por otro lado en algunos alfavirus (EEV) se ha observado "formas gigantes" conteniendo varias nucleocápsides (Bykovski, 1969).

Los virus completos tienen un PM de 58 a 70 X 10⁶ d y una densidad que varía de 1.17 a 1.25 g/ml. Su coeficiente de sedimentación también varía, siendo para los alfavirus de 240 a 280 S y para los flavivirus de 200 a -- 210 S.

Los togavirus son sensibles a solventes orgánicos y detergentes, pueden inactivarse con formol y betapropiolactona, así como por calor y ácidos, su sensibilidad a las proteasas es variable y no se estabilizan por la adición de cationes divalentes. Son estables en medios básicos y se pueden conservar a bajas temperaturas, especialmente cuando el medio de mantenimiento contiene proteínas.

COMPOSICION QUIMICA. El genoma de los togavirus es una molécula continua de ARN monocatenario, que tiene un PM de 3 a 4 X 10⁶, está formada de unos 13 000 nucleótidos y su coeficiente de sedimentación es de 42 a 49 S.

Estos virus contienen un 57-61% de proteínas, 27 a 31% de fosfolípidos y colesterol, y 6 a 4% de carbohidratos. Por electroforesis en gel de poli acrilamida se ha demostrado la presencia de dos polipéptidos glicosilados en la envoltura y un polipéptido en la nucleocápside, así como la existencia de algunas proteínas precursoras.

Los alfavirus, en especial el virus Sindbis, contienen dos proteínas glicosiladas llamadas E1 y E2 con un PM aproximado de 50 000 y una tercera proteína que no contiene carbohidratos en la nucleocápside.

La composición proteica de los flavivirus es similar, contienen 3 tipos de polipéptidos: una glicoproteína llamada V3 que forma parte de la envoltura, V2 es la proteína de la nucleocápside y V1 cuya composición exacta no se conoce, pero puede estar asociada con la cubierta. Los otros miembros de los togavirus tienen una composición proteica parecida.

Con respecto a su composición lipídica, los lípidos están contenidos en una bicapa en la que los grupos polares están orientados hacia el centro de los virus, los fosfolípidos estabilizan la envoltura viral pero no se han relacionado con la infectividad de ellos.

Los carbohidratos que se encuentran formando parte de la envoltura viral son manosa, N-acetilglucosamina y galactosa (M.C. Horzinek, 1973; James H. y Ellen G. Straus, 1978).

REPLICACION. Los togavirus pertenecen al grupo IV de la clasificación de Baltimore, de modo que poseen un genoma de ARN monocatenario, el cual puede actuar como ARNm. Su modelo de replicación es similar al de los picornavirus (T.H. Penington).

El ciclo de replicación, que se lleva a cabo enteramente en el citoplasma, resulta más lento para los flavivirus que para los alfavirus. Se inicia con la adsorción del virus a los sitios receptores de la célula. Su ARN se libera y es rápidamente transcrito para formar las proteínas estructurales.

En la replicación de los togavirus son notables dos características: la "vacuolización" de las células infectadas y el sitio de maduración de las partículas víricas. La capa interna de la cubierta de los alfavirus, se forma al penetrar las nucleocápsides a las vacuolas citoplásmicas recién formadas y típicas de la infección. En cambio, los flavivirus adquieren esta envoltura de vacuolas que se forman en el retículo endoplásmico o el aparato de Golgi, y los rubivirus la adquieren a partir de la membrana marginal o plasmática. La composición de la capa interna de la cubierta vírica depende entonces del sitio de maduración.

La última capa de los virus se adquiere al atravesar la membrana celular, por un proceso de gemación, durante el cual también se adquieren los péplómeros.

Todo esto se ha comprobado al analizar los fosfolípidos de la cubierta, los cuales generalmente proceden de fosfátidos preexistentes en la célula, aunque su composición varíe según el virus de que se trate dependiendo de la afinidad de las glicoproteínas víricas por dichos lípidos (M.C. Horzinek, 1973).

ALFAVIRUS.

PROPIEDADES GENERALES. Los alfavirus son mayores que los flavivirus, el grupo está integrado por aproximadamente 20 virus que se transmiten por mosquitos, y de los cuales el virus Sindbis y el virus del bosque de Semliki son los mejor estudiados y caracterizados.

Los alfavirus sedimentan ligeramente más rápido que los flavivirus, siendo su coeficiente de sedimentación de 280 S .

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Todos los miembros del grupo de los alfavirus están relacionados antigenicamente y muestran reacciones cruzadas entre ellos. Esta reactividad cruzada se pone de manifiesto por pruebas de inhibición de la hemoaglutinación y neutralización. En algunos existe un solo tipo antigenico, pero por ejemplo para los virus de la EEV se han detectado 4 tipos denominados del I al IV.

Por otro lado muestran actividad hemoaglutinante con eritrocitos de ganso, pollo y otras especies. La hemoaglutinina reside en los peplómeros glicoproteicos de la envoltura viral y su acción se inhibe por efecto de ciertas proteasas (caseína, biomelina), urea, detergentes, etc.

Los principales virus de éste grupo, que revisten importancia para el hombre, sus cuadros clínicos y distribución geográfica se resumen en el siguiente cuadro:

ESPECIE	VECTOR	ENFERMEDAD	DISTRIBUCION
Encefalitis Equina del Este (EEE)	mosquito	Encefalitis	Zona Este de EEUU, Canada, Brasil, Centroamérica y Filipinas.
Encefalitis Equina de Venezuela (EEV)	mosquito	Encefalitis	Sudamérica, México, - EEUU .
Encefalitis Equina del Oeste (EEO)	mosquito	Encefalitis	Zona Occidental de EEUU, Canada, México, Argentina y Brasil.
Virus Sindbis	mosquito	Subclínico	Egipto, India, Africa del Sur y Australia.
Virus del Bosque de Semliki	mosquito	Fiebre o ausencia de signos	Africa Oriental y Occidental.

ESPECIE	VECTOR	ENFERMEDAD	DISTRIBUCION
Virus Mayora	mosquito	Cefalea, fiebre, dolor muscular y articular.	Bolivia, Brasil, Colombia y Trinidad.
Virus Chinkunguya	mosquito	Cefalea, fiebre, exantema y dolor muscular y articular.	Africa Oriental, Africa del Sur y Sudeste de Asia.

PATOGENESIS. El virus se transmite cuando un mosquito infectado (*Aedes*, *Culex*, etc.) pica a un huésped sensible. Todas las infecciones por togavirus en el hombre son similares en las etapas iniciales: primero se multiplican en las células reticuloendoteliales de ganglios linfáticos y endotelio vascular, posteriormente se produce la viremia iniciándose la fase generalizada de la enfermedad, y finalmente se invaden otros órganos y el sistema nervioso central.

En las infecciones por alfavirus se presentan dos tipos de síndromes: los virus EEE, EEO y EEV producen una fase sistémica con escañosfríos, fiebre y dolor generalizado, seguida de una fase encefalítica, que se presenta con convulsiones, rigidez y coma, y las infecciones por los virus Chinkunguya y Mayora se limitan a la fase sistémica.

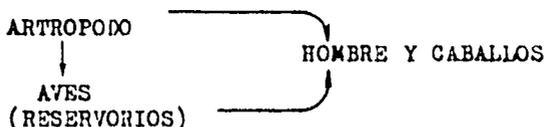
Los virus de la EEE provocan un proceso grave de elevada mortalidad (80%) y lesiones neurológicas y físicas graves en los sobrevivientes y afecta principalmente a niños. En cambio, los virus de la EEO originan procesos menos graves y los pacientes curan sin presentar secuelas. Por último los virus de la EEV infectan principalmente a caballos y en el hombre los trastornos son leves, dando lugar rara vez a encefalitis.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. Es posible aislar el virus de la sangre, antes de que aparezcan los síntomas, o del cerebro en casos de muerte, inoculando las muestras en huevos embrionados o en cultivos primarios de células de mamíferos y artrópodos. En los cultivos celulares de mamíferos (riñón de pato, células Hela, líneas celulares humanas y de mono, etc) se observa ECP y formación de placas, no así en los cultivos celulares de artrópodos.

Para el diagnóstico serológico se emplean pruebas de IH, fijación del complemento o neutralización, comparando los títulos de anticuerpos entre la fase aguda y la de convalecencia.

EPIDEMIOLOGIA. En la naturaleza, la persistencia de los alfavirus, exige la presencia de un vector y de un huésped vertebrado conveniente que sirva de reservorio. Los mosquitos infectados no enferman y son portadores toda su vida.

El ciclo de la infección para los virus de la EEO y EEE se puede representar de la siguiente manera:



A pesar del nombre, los caballos y el hombre son los huéspedes terminales de la cadena infecciosa y no son huéspedes naturales. Para los virus de la EEO se sabe que el mosquito vector es Culex tarsalis, que se presenta en verano y tal vez persiste porque infecta a animales ivernantes como ciertos reptiles o aves, durante las estaciones en que no hay vectores transmisores, - por ejemplo otoño e invierno en regiones tropicales.

Para los virus de la EEE el vector es el mosquito Culex melanura y - los principales huéspedes naturales son las aves. El virus de la EEV se transmite por medio del mosquito Aedes taenorrhynchus y Aedes scapularis y aunque no se conocen sus reservorios naturales, se sospecha que puedan ser ciertos mamíferos roedores.

No se conocen exactamente los vectores que transmiten a los otros miembros de los alfavirus, y aunque en ciertos animales y en el hombre, se han detectado anticuerpos específicos, no se han asociado a ningún proceso patológico grave.

PREVENCIÓN Y CONTROL. No hay tratamiento específico, ni vacunas eficaces, sin embargo se utilizan vacunas de virus inactivados con formol para proteger a los caballos, obteniéndose un buen título de anticuerpos, así como también para protección del personal que trabaja en laboratorios de investigación y en el área veterinaria.

La prevención de la infección se basa en evitar la exposición en las zonas donde abundan los artrópodos y erradicar los vectores.

FLAVIVIRUS.

Los flavivirus constituyen el grupo más grande de los togavirus que se transmiten por artrópodos y se han descrito de ellos 30 especies. Sus características fisicoquímicas y antigénicas son similares a las de los alfavirus presentando reacciones cruzadas entre sí, que se detectan por fijación del complemento, neutralización e inhibición de la hemaglutinación.

Las principales especies y su distribución se muestran en el siguiente cuadro:

ESPECIE	VECTOR	ENFERMEDAD	DISTRIBUCION
Encefalitis de San Luis	Mosquito	Encefalitis	EEUU, Canadá, Centro y Sudamérica.
Encefalitis Japonesa	Mosquito	Encefalitis	Japón, Sudeste de Asia, Malasia, India y Siberia.
Encefalitis del Valle de Murray	Mosquito	Encefalitis	Australia y Nueva Guinea, Papua etc.
Virus Ilheus	Mosquito	Cefalea, fiebre, mialgia, exantema	Islas del Pacífico Sur, Sudeste de Asia, Australia, Nueva Guinea, Grecia, islas del Caribe, Centro y Sudamérica.
Virus del Dengue	Mosquito	Cefalea, fiebre, mialgia, postración, exantema	Islas del Pacífico Sur, Sudeste de Asia, Australia, Nueva Guinea, Grecia, Islas del Caribe, Centro y Sudamérica, Egipto, Israel, Uganda, Borneo, URSS.
Virus de la Fiebre Amarilla	Mosquito	Fiebre, postración, hepatitis y nefritis	África, Sudamérica, ocasionalmente en Centroamérica.
Virus transmitidos por garrapatas.	Garrapatas	Encefalitis rusa de primavera, meningoencefalitis y fiebre hemorrágica.	URSS, Japón, Europa Central, Inglaterra, Canadá, EEUU, Malaya e India
Virus con vector desconocido		Fiebre hemorrágica de los monos.	

De los flavivirus que se encuentran en el continente americano, los virus de la fiebre amarilla, dengue y encefalitis de San Luis son los que con mayor frecuencia infectan al hombre.

VIRUS DE LA FIEBRE AMARILLA.

El virus de la fiebre amarilla es el prototipo de los flavivirus, tienen como característica, su tamaño de 30 a 40 nm, soportan la liofilización y existe en la naturaleza un solo tipo antigénico.

PATOGENESIS. El virus penetra al organismo por la picadura del mosquito Aedes aegypti, se multiplica en los ganglios linfáticos regionales y de ahí pasa a la sangre, diseminándose posteriormente al hígado, bazo, riñones y médula ósea.

En cuanto al cuadro clínico el periodo de incubación es de 3 a 6 días, la enfermedad se inicia bruscamente con escalofríos, cefalea y vómitos, después de un periodo de "remisión", comienza el periodo de "intoxicación", durante el cual aparece ictericia acompañada de hemorragias nasales y del tubo digestivo. En los casos graves, la muerte se debe a lesiones degenerativas del parénquima del hígado, miocardio, meninges y riñones, además de las hemorragias de la mucosa intestinal. Los pacientes pueden recuperarse después de 7 a 8 días de iniciado el periodo de intoxicación. La convalecencia es rápida y no suele haber secuelas.

La inmunidad que se adquiere con la infección es duradera, desapareciendo más rápidamente los anticuerpos fijadores del complemento que los anticuerpos neutralizantes, los que pueden persistir hasta 75 años.

Las lesiones patológicas son hígado graso, degeneración grasosa del riñón y también es posible encontrar inclusiones de sustancia hialina en el citoplasma de sus células, que reciben el nombre de cuerpos de Councilman.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. Es posible encontrar anticuerpos neutralizantes a partir del quinto día de la enfermedad. Para efectuar la prueba de neutralización se requiere de diluciones del suero del paciente que se hacen reaccionar con el antígeno correspondiente, inoculándose después a ratones por vía intracerebral. Por otro lado los virus también pueden aislarse inoculando la membrana corioalantoidea de huevos embrionados de 11 días en los que se observa la muerte del embrión. También se desarrollan en tejidos embrionarios de pollo, ratón y artrópodos.

Resulta útil para el diagnóstico el estudio histopatológico de biopsias de hígado, en las cuales se buscan los cuerpos de Councilman.

EPIDEMIOLOGIA. La fiebre amarilla presenta dos ciclos epidemiológicos diferentes: la fiebre amarilla urbana o epidémica y la fiebre amarilla selvática. La fiebre amarilla urbana se transmite por mosquitos Aedes aegypti infectados por haber picado previamente a individuos enfermos que se encontraban en la fase virémica, volviéndose infectante el insecto después de 12 a 14 días, tiempo al cual se le llama periodo de incubación extrínseca.

La fiebre amarilla selvática se transmite por los moscos Haemagogus spegazzini, Aedes simpsoni y afecta principalmente a los monos, en los que la enfermedad puede ser grave o latente; el hombre es un huésped accidental que se infecta al llegar a la selva, sin embargo, la enfermedad también puede transmitirse de los monos al hombre en ambientes selváticos.

A la fiebre amarilla suelen ser más sensibles los ancianos que los niños pequeños, aunque puede afectar a personas de cualquier edad. La mortalidad en zonas endémicas es aproximadamente de un 10%.

PREVENCIÓN Y CONTROL. La fiebre amarilla urbana se ha podido controlar sobre todo en EEUU y Europa con la erradicación del mosquito Aedes aegypti, pero estas campañas resultan ineficaces para eliminar la fiebre amarilla selvática, por lo que en ciertas zonas de Sudamérica y África aún es endémica.

La vacuna que se emplea se elabora con virus atenuados (cepa 17D) que se propagan en embrión de pollo y confiere inmunidad eficaz por lo menos durante 6 años.

VIRUS DEL DENGUE.

El dengue es una enfermedad viral transmitida de persona a persona por medio de mosquitos vectores y puede ocurrir en casi cualquier parte del mundo en climas tropicales o subtropicales.

El virus del dengue fué descubierto en 1907 por Ashburn y Craig en la sangre de pacientes humanos que presentaban un proceso sistémico leve, y por sus características fué clasificado dentro del grupo de los flavivirus.

PROPIEDADES GENERALES Y ANTIGENICAS. El virus del dengue tiene simetría cúbica, un diámetro de 35 a 40 nm y un núcleo de 20 μ m. Se inactiva con desoxicolato y éter.

Existen cuatro serotipos del virus que pueden distinguirse fácilmente por pruebas de neutralización y fijación del complemento, así como pruebas de doble difusión en agar, por medio de las cuales se han detectado los antígenos específicos de cada serotipo, además de un antígeno común.

Los virus del dengue presentan, por otra parte, considerable reactividad cruzada con otros flavivirus, como los de la fiebre amarilla, encefalitis japonesa y Encefalitis de San Luis (Vector Topics # 2).

PATOGENESIS. El virus penetra al organismo, cuando el individuo es picado por un mosquito *Aedes* infectado; se desarrolla una viremia y el virus, aparece en la circulación periférica después de 5 o 6 días, al mismo tiempo que se presentan los síntomas de la enfermedad. Los síntomas incluyen cefalea, dolor de espalda y extremidades, fatiga, rigidez, falta de apetito, escalofríos, disnea y exantema, en ocasiones acompañados de un aumento brusco de la temperatura. El exantema puntiforme típico del dengue aparece del 3ro a 4to día después de un ataque febril y puede confundirse con escarlatina o rubeola. También puede presentarse una leve linfadenopatía.

Por otro lado, mientras que el dengue clásico se caracteriza por ser clínicamente autolimitado y casi nunca termina fatalmente, las complicaciones más serias de la infección dan un cuadro clínico diferente.

La fiebre hemorrágica del dengue (FHD), es una enfermedad severa caracterizada por permeabilidad vascular y mecanismos de coagulación anormales, cuadros febriles, cefalea, dolores abdominales, vómito, signos hemorrágicos en encías, epistaxis, una erupción petequeal fina y trombocitopenia. Una proporción variable de estos casos puede progresar hasta el característico "Shock del síndrome del Dengue" y entonces el número de casos fatales es muy alto.

La causa de estas manifestaciones más severas aún no se ha aclarado, ya que el virus responsable de este cuadro podría ser el mismo que da lugar a la forma clásica de la enfermedad. Una hipótesis sugiere que podría estar involucrado un fenómeno inmunológico de hipersensibilidad, ya que la FHD se ha observado en personas que han sido infectadas consecutivamente con varios serotipos (Halstead et al., 1973), sin embargo, se han reportado casos en individuos que solo habían sido infectados con un solo tipo de virus. Otros factores sugeridos incluyen características genéticas o raciales del huésped, mutación en el virus o una doble infección con otro agente (Vector Topics, 1977).

INMUNIDAD. La respuesta a la primoinfección da una inmunidad tipo-específica, pudiendo presentarse infecciones posteriores por los otros tipos de virus. Los anticuerpos aparecen durante los 2 o 3 primeros días después del inicio de los síntomas.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. Los métodos serológicos disponibles para el diagnóstico del dengue incluyen HI, FC' y Nt, siendo la primera generalmente ,

la prueba más útil para confirmar el diagnóstico clínico.

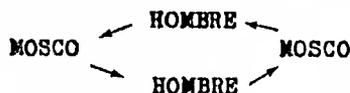
El diagnóstico definitivo de casos de dengue requiere no solamente un diagnóstico clínico y serológico, sino también el aislamiento e identificación del virus. En la actualidad el mejor método para la detección y aislamiento del virus del dengue es inocular en líneas celulares como la LLC-MK2, riñón de mono y HeLa, en las cuales los 4 serotipos producen ECP; el tipo 2 además da lugar a la formación de sincicios en cultivos de células de mosquitos. Se ha desarrollado una nueva técnica para el aislamiento del virus que consiste en la inoculación parenteral (intratorácica) al mosquito Aedes aegypti, de suero u otros líquidos en los que sospecha la presencia del virus, detectando luego la presencia del antígeno en las glándulas salivales por medio de inmunofluorescencia.

EPIDEMIOLOGIA. Históricamente el dengue ha ocasionado epidemias en varias regiones del mundo. Una de las primeras descripciones ocurrió en Filadelfia en 1780 y se han presentado numerosas epidemias en áreas tropicales y subtropicales, por ejemplo, en Louisiana E.U. en 1945, en Puerto Rico en los años 1963, 1969 y 1975, y en el Caribe.

Hasta antes de 1975, en el hemisferio occidental solo se había presentado el tipo de dengue no fatal y la FHD parecía estar limitada al sur de Asia y Oceanía, sin embargo, ultimamente han ocurrido casos que presentaban los síntomas hemorrágicos en Puerto Rico y Curazao. En los países tropicales de Asia ésta enfermedad es una de las principales causas de hospitalizaciones y defunciones infantiles.

El dengue continúa siendo endémico y epidémico en áreas extensas del Suroeste de Asia y en el Suroeste del Pacífico. En estas regiones se encuentran los 4 serotipos y las manifestaciones hemorrágicas son relativamente comunes. También es endémico en el Caribe y en gran parte del continente americano, siempre y cuando se encuentre el mosquito transmisor. Particularmente en México existen localidades infestadas por Aedes aegypti, en la costa del golfo, desde Tamaulipas hasta Quintana Roo, también Chiapas, San Luis Potosí y Nuevo León (Boletín OSP, 1979).

El ciclo de infección en el hombre se establece cuando un hombre es picado por un mosquito portador del virus, convirtiéndolo poco tiempo después en fuente de infección para otros moscos.



Una vez que un mosquito se infecta requiere un periodo de incubación de 8 a 10 días para que se multiplique el virus, permaneciendo como foco de infección por el resto de su vida. Probablemente existe un ciclo selvático en el que aparentemente el vector es Aedes albopictus y además también se ha comprobado que los mosquitos del género Aedes scutellaris pueden transmitir la enfermedad.

Las épocas en las que se presenta una mayor incidencia son en verano y otoño, ya que en invierno las larvas del mosquito no se desarrollan y se interrumpe la transmisión. Respecto al factor edad, se ha observado que generalmente, el dengue en su forma clásica afecta con mayor frecuencia a adultos y en niños suele presentarse más comúnmente la FHD. En los niños pequeños la mayoría de las infecciones por dengue clásico son moderadas y resultan difíciles de distinguir de un resfriado común u otras fiebres estacionales.

TRATAMIENTO Y CONTROL. Debido a la ausencia de alguna forma específica de tratamiento o inmunización para el dengue, el control de la enfermedad, reside totalmente en la erradicación del mosquito transmisor, en la temprana identificación de los casos y si es posible, en la vigilancia de la enfermedad de saber cuando, como y donde controlar a los vectores.

El tratamiento para el dengue clásico es totalmente sintomático. Los casos severos de la FHD se tratan normalmente con soluciones intravenosas y transfusiones.

Se ha estudiado la posibilidad de elaborar vacunas para estos virus, pero la existencia de múltiples serotipos, como lo incierto de la posibilidad de inmunidad en la FHD ha bloqueado el desarrollo de productos comerciales.

RUBIVIRUS

VIRUS DE LA RUBEOLA. La rubeola es una enfermedad exantemática de niños y adultos jóvenes; la primera descripción clínica se publicó en Alemania a principios del siglo XIX, de ahí el nombre de sarampión alemán. El interés por la rubeola aumentó sin embargo, a partir de 1941 en que se observó su poder teratogénico y fué hasta 1962 que el virus pudo ser aislado por Neva, Weller y Parkman de amnios humano (Plotkin S.A., 1968).

PROPIEDADES GENERALES. El virus de la rubeola es generalmente esférico, con un diámetro de 60 nm y una nucleocápside de 30 nm, sin embargo se han encontrado variedades pleomórficas.

El ARN vírico tiene un coeficiente de sedimentación de 38 a 40 S y un PM de 3×10^6 d, tiene un alto contenido de arginina.

Es relativamente lábil al calor, a 37°C en un medio con 2% de suero pig de su infectividad en 3 horas, a 56°C la pierde en 30 min. y a 100°C en 2 min. Es inactivado también a un pH 5 a 8, por radiaciones gamma, luz ultravioleta, y por disolventes orgánicos como éter, cloroformo, acetona, formalina, etc. La beta-propiolactona inactiva al virus de la rubeola pero aparentemente retiene sus características antigénicas. Es resistente a la acción de fluorocarbon, timerosal y bisulfito de sodio. Se estabiliza con MgSO_4 .

La infectividad del virus de la rubeola se puede conservar a -60°C o -70°C , pero se pierde a -20°C , puede mantenerse a -4°C por una semana si al medio se le añaden proteínas.

PROPIEDADES ANTIGENICAS . Existe un solo tipo antigénico del virus de la rubeola y aunque se han detectado algunas variantes antigénicas menores, no han tenido importancia clínica.

El virus de la rubeola posee determinantes antigénicos que estimulan la producción de anticuerpos fijadores del complemento, que pueden ser extraídos de cultivos de células infectados con él, mediante una solución amortiguadora alcalina; estos antígenos son de dos tipos, uno ligero o soluble y otro pesado y sedimentable. El ligero no se ha asociado con la capacidad infectiva del virus, mientras que el pesado sí lo está. Los dos tipos retienen sus propiedades antigénicas después de ser tratados con éter, lo cual sugiere que los lípidos no tienen propiedades antigénicas.

El virus de la rubeola posee además un antígeno hemaglutinante que se puede extraer con una solución amortiguadora alcalina o bien puede demostrarse en fluidos de cultivos infectados a los que se les adiciona suero tratado con kaolin. La máxima actividad hemaglutinante se presenta con eritrocitos de pollo, ganso o cerdo, siendo menor con eritrocitos de pollo adulto, carne ro o humanos. La hemaglutinina es activa de 4 a 25°C pero no a 37°C y se destruye con éter o tripsina, lo que sugiere una composición lipoproteica.

PATOGENESIS. La rubeola se transmite por vía respiratoria, siendo las secreciones, el vehículo principal de infección. El virus después de multiplicarse en las vías respiratorias superiores, pasa a la sangre a través de los ganglios linfáticos. El periodo de incubación es de 16 a 18 días, pudiéndose aislar el virus de lavados faringeos, sangre y heces, varios días antes de la aparición del exantema.

En general la rubéola suele ser una enfermedad más benigna que el sarampión y sus caracteres clínicos abarcan desde una infección subclínica, hasta el cuadro típico de linfadenopatía, exantema y fiebre ligera. El inicio de la enfermedad se acompaña de malestar, adenopatía, cefalea y una leve orziva, que preceden por 1 o 5 días a la erupción la cual permanece por 2 o 3 días, manifestándose inicialmente en la cara y al cabo de 24 horas invade el cuello, tronco, brazos y finalmente las piernas. Las lesiones aparecen como pequeñas máculas o pápulas rosadas separadas unas de otras. En el adulto puede presentarse también conjuntivitis, tos y fotofobia, y particularmente en la mujer se han descrito asociaciones con poliartritis, poliartralgia, y panencefalitis (Ogra et al., 1975; Cremer, 1975).

Por otro lado, aunque no de manera común, se han descrito complicaciones graves como meningoencefalitis y púrpura trombocitopénica, afortunadamente del primer caso, existe solo una frecuencia de 1 en 5000.

Rubéola congénita. La rubéola congénita se debe a la transmisión transplacentaria del virus, en la fase virémica de la infección materna. El mayor daño corresponde a la infección durante el primer trimestre del embarazo y se traduce en abortos o nacimientos de productos muertos en un 30 a 35% de los casos. Los efectos teratogénicos si el feto sobrevive, se presentan desde el nacimiento o durante el primer año de vida, y algunos de los signos y consecuencias de la infección in utero pueden ser: sordera, lesiones oculares (cataratas, coriorretinitis, microftalmía), anomalías cardíacas, microcefalia y otras lesiones congénitas, además de púrpura trombocitopénica, hepatoesplenomegalia, ictericia, anemia e insuficiencia del peso al nacer, síntomas que constituyen el "Síndrome de la Rubéola" (Rawls W.E., 1968).

INMUNIDAD. Se adquiere una inmunidad de por vida después de una infección natural. Los anticuerpos que se detectan en el momento de la erupción son los neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación, alcanzando su máximo nivel 2 a 3 semanas después de la aparición del exantema, manteniéndose en circulación durante mucho tiempo. Los anticuerpos fijadores del complemento aparecen entre el 6o. y 10o. día después de iniciado el cuadro, disminuyendo a los 6 meses hasta desaparecer en pocos años.

En el caso de la rubéola congénita, aún a los 4 o 6 meses de edad, se encuentran en los niños elevados títulos de anticuerpos tipo IgG e IgM, a diferencia de los niños normales en los que los títulos de anticuerpos disminuyen conforme se pierden los Acs maternos, ya que son de tipo IgG materna.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El cuadro clínico de la rubéola puede confundirse con el sarampión, así como con infecciones causadas por virus ECHO y Coxsackie, bien cuando no se manifiesta claramente o se tiene poca experiencia en el campo clínico, de modo que la única manera de establecer un diagnóstico seguro, es mediante el aislamiento del virus y/o recurrir a las técnicas serológicas.

Para el aislamiento es necesario contar con muestras de secreciones nasofaríngeas, las cuales se pueden inocular en una gran variedad de líneas celulares, por ejemplo, RK-13 (riñón de conejo), SIRC (cornea de conejo), BHK-21 (riñón de hámster) o líneas VERO (riñón de mono verde) incubando posteriormente a 33-35°C. El efecto citopático que se produce, rara vez afecta la totalidad del cultivo y comienza por un aumento de la refractividad de las áreas focales, después las células adquieren forma redonda y se pueden separar de la monocapa del cultivo. Puede presentarse también una alteración de la estructura de la membrana de la célula infectada, lo que permitiría identificar al virus por el fenómeno de hemoadsorción.

Otro método que permite identificar al virus de la rubéola, se basa en el fenómeno de interferencia, o sea, en la capacidad del virus para impedir la infección posterior de una célula por un virus diferente del de la rubéola que sea citopatogénico en el mismo cultivo celular. En este caso, las líneas celulares que más se emplean son las de riñón de mono y los ECP que el virus de la rubéola bloquea, son los que producen los enterovirus ECHO 11, mixovirus, herpesvirus y papovavirus.

El diagnóstico serológico puede establecerse por pruebas de inhibición de la hemoaglutinación, hemoadsorción, neutralización, fijación del complemento e inmunofluorescencia, siendo las 2 primeras las que se emplean comúnmente por su simplicidad y especificidad (Grinstein, S., 1979). La técnica de inmunofluorescencia directa resulta sensible para el diagnóstico en niños, no así en adultos, sobre todo en mujeres embarazadas, en cuyo caso se recurre a la técnica indirecta, para reconocer la IgM específica de la rubéola en el suero del paciente; este método se recomienda para el diagnóstico de urgencia (Forghani et al., 1973; Haire et al., 1972).

EPIDEMIOLOGIA. Las infecciones por el virus de la rubéola ocurren en todo el mundo, dando lugar a epidemias cada 9 o 10 años, coincidiendo estos brotes con la primavera, periodo durante el cual afecta principalmente a niños en edad preescolar.

Los pacientes son contagiosos mientras cursan la enfermedad y eliminan el virus por la faringe , transmitiéndolo a otras personas; en los pacientes infectados con rubeola en la etapa postnatal, no se producen estados de portador, en cambio en la rubeola congénita se ha observado eliminación crónica del virus durante muchos meses después del nacimiento, lo cual constituye un peligro para el personal sensible como medio de diseminación.

En México, la rubeola es una enfermedad endémica por lo que casi el 90% de la población mayor de 15 años ha tenido contacto con el virus y presentan títulos protectores de anticuerpos (J.R. Gómez, 1978).

PREVENCIÓN Y CONTROL. Para la prevención de la rubeola, existen en el comercio vacunas de virus atenuados cepas HPV-77, HPV77-DE5, Cendehill, RA 27/3 y TO-336 las cuales confieren un elevado nivel de protección. Estas vacunas - se han obtenido en general por pases sucesivos del virus en cultivos de células de riñón de mono y con ellas se ha conseguido en la actualidad un control sobre el virus de la rubeola. La vacunación se recomienda en niños de 1 a 12 años y en niñas púberes, ya que el objetivo principal de la vacunación es que la mujer en edad de concebir presente un título de anticuerpos protectores - (1:16 o mayor, por IR). No se recomienda la vacunación en mujeres embarazadas y además debe evitarse el embarazo durante dos a tres meses después de la vacunación, debido a que este virus atraviesa la barrera placentaria y a su poder teratogénico.

Particularmente en nuestro país, un alto porcentaje de mujeres en edad de concebir son seropositivas, de tal forma que no se justifica una vacunación masiva contra este virus (J.R. Gómez, 1978).

Las vacunas antirrubélicas, aunque suelen tolerarse bien, provocan ciertas reacciones postvacunales, de 2 a 4 semanas después de la vacunación aparece virus en la nasofaringe, y se producen además de leves adenopatías y exantemas difusos, artralgias e incluso casos de artritis, en un porcentaje mucho mayor en mujeres adultas (25 a 40%) que en los niños (1 a 2%). Respecto a esto se ha observado que las vacunas Cendehill y TO-336 provocan menos reacciones adversas en las mujeres adultas que las cepas vacunales RA27/3 y HPV-DE5 (esta última actualmente se ha retirado del comercio) (C. Huygeler et. al ; J.E. - Banatvala, 1978).

Todas las vacunas provocan una respuesta de anticuerpos de tipo IgG, IgM e IgA, se aplican por vía parenteral, los niveles de anticuerpos séricos perduran aproximadamente 7 años y en algunos casos al cabo de este tiempo disminuyen considerablemente, lo cual explicaría los casos de reinfección.

Por otra parte, se han hecho estudios para establecer si sería factible que mediante aplicación intranasal de la vacuna se provocara una inmunidad - duradera que evitara posteriores reinfecciones, teniendo en cuenta que es por esta vía por la que el virus penetra al organismo. Se ha observado que la vacuna que provoca una buena respuesta humoral (tipo IgG, IgA, IgM) y a nivel de la mucosa (IgA secretoria) es la cepa RA27/3, sin embargo la vacunación por esta vía aún no ha sido aprobada para su uso sistemático en el hombre (O-graP.L., 1980).

BIBLIOGRAFIA

Andrews S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Ed. Baillieri Tindall and Co.Ltd., London (1978).

Bell R. John : Purification and aminoacid compositions of the structural proteins of Sindbis virus. Virology 97, 287-294, (1979).

Bykouski H.: The experimental host range of the arthropod-borne animal viruses in arthropods. Virology 12:391 (1960).

Chantler K. Janot: Rubella virus: Intracellular polypeptide synthesis. Virology 98, 275-298, (1979).

Code of federal regulations. Vacuna antirubeola. Government printing office. Washington USA, (1977).

Cremer N.E. et.al.: Isolation of rubella virus from brain in chronic progressive panencephalitis. J. of Gen. Virol. 29: 143 (1975).

De Madrid A.T. and Portielf J.S.: The flaviviruses (group B arboviruses): a cross- neutralization study. J.Gen. Virol. 23, 91-96 (1974).

Forghani, B. et.al.: Demonstration of rubella IgM antibody by indirect fluorescent antibody staining, sucrose density gradient centrifugation and mercapto ethanol reduction. Intervirology 1:48, (1973).

Grinstein S. y Muchinick G.R.: Diagnóstico serológico de la rubeola congénita. Revista del hospital de niños. Vol.XXI, No.83, (1979).

Haire M. and Hadden D.S.M.: Rapid diagnosis of rubella by direct immunofluorescent staining of desquarated cells in throat swabs. J.Med. Microbiol. 5: 231, (1972).

- Halstead S.B.: Dengue haemorrhagic fever- a public health problem and field - for research. Bull WHO, (1980).
- Horzineck M.J.: Comparative aspects of togaviruses. J.Gen.Virol. 20:87,(1973).
- Huygelen C.J. et.al.: An attenuated rubella virus vaccine (Cendehil 51 strain) grown in primary rabbit kidney cells. Prog. Med. Virol. 11:107-125, (1969).
- Kuberski T.T. and Roses L.: A simple technique for the detection of dengue Ag in mosquitoes by immunofluorescence. Am. J. Trop. Med.Hyg. 26:533, (1977).
- Kuberski T.T. et.al.: Identification of dengue viruses using complement-fixing Ag produced in mosquitoes. Am.Trop.Med.Hyg. 26:538, (1977).
- Melniok J.L.: Taxonomy of viruses. Prog.Med.Virol. 26: 214-232, (1980).
- Ogra P.L. et.al.: Viral vaccination via the mucosal routes. Rev. of Infect. Dis. 2(3): 352, (1980).
- OMS.Guías técnicas para el diagnóstico, tratamiento, vigilancia, prevención y control de la fiebre hemorrágica del dengue. Comité Técnico asesor sobre la FHD para las regiones de Asia sudoriental y pacífico occidental. (1975).
- Plotkin S.A.: Rubella virus. In Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections, pp. 365(E.H. Lennette and N.J.Schmidt, eds.) American Public Health Association, New York, (1969).
- Rawls W.E.: Congenital rubella: the significance of virus persistence. Prog. Med. Virol. 10:238, (1968).
- Ruiz Gómez J. y cols.: Seroepidemiología del sarampión, rubeola y parotiditis en la Rep. Mexicana. Salud Pub. de México Vol.XX No.1 pp.29, (1980).
- Stollar V.: Studies on the nature of dengue virus IV. The structural proteins of type 2 dengue virus. Virology 39: 426-438, (1969).
- Strauss J. and Ellen G. Strauss: Togaviruses. In Comprehensive Virology. Vol 9. (Fraenkel-Conrat, eds.) Plenum Press, (1979).
- Vector Topics. No.2 "El control del dengue". Public health service. Julio, (1977).
- WHO Expert Committee on yellow fever. Third Reprint. World Health Organization Technical Report Series No.479. Geneva, (1971).

BUNYAVIRIDAE

CLASIFICACION. Bunyaviridae es una familia definida como tal relativamente hace poco tiempo y comprende a un alto porcentaje de los virus transmitidos por artrópodos (aproximadamente 100 especies). Estos virus se encuentran agrupados con base a sus características morfológicas, químicas e inmunológicas en el "supergrupo Bunyamwera". En este amplio grupo se incluye el virus de la encefalitis de California, el virus Bunyamwera y los virus del grupo C, que son los que con mayor frecuencia afectan al hombre (Melnick, 1980).

CRIOGRAMA. R/1 ; 4-10 x 10⁶ / ; S/S ; V/In

CARACTERÍSTICAS GENERALES. Los bunyavirus son partículas esféricas de 90 a 100 nm de diámetro, cubiertas de peplómeros, con un tamaño de 10 a 15 nm, sobre una bicapa lipídica que constituye la envoltura viral. En los virus del grupo California, se ha reportado un genoma de ARN trisegmentado, con un PM total de 4 x 10⁶ a 6 x 10⁶, los tres segmentos se denominan según su tamaño L (large), M (medium), y S (small), encontrándose dentro de una nucleocápside de simetría helicoidal compuesta de un solo tipo de proteína, denominada proteína "N" con un PM de 19 a 23 x 10³d. En otros virus, como por ejemplo, en el Uukuniemi, se ha encontrado un ARN de 4 segmentos con un PM de 13 x 10⁶ a 15 x 10⁶d. (Pettersen, 1973).

En los bunyavirus se han identificado 2 glicoproteínas específicas localizadas en la cubierta ; G1 de 82-85 x 10³d y G2 de 30 a 45 x 10³d, (I.A. Holmes, 1971).

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Todos los bunyavirus están relacionados antigenicamente, observándose que la reactividad cruzada del supergrupo Bunyamwera es máxima en las pruebas de fijación del complemento, en comparación con los alfavirus y flavivirus, cuya reactividad cruzada se produce principalmente en las pruebas de inhibición de la hemaglutinación. (Casals, 1964).

REPLICACION. El mecanismo de replicación exacto no se conoce, pero se ha determinado que siguen el mismo esquema de replicación, maduración y liberación que los togavirus, es sea, que la replicación es intracitoplásmica, el ARN es monocatenario y puede actuar como ARNm, el ensamblaje se lleva a cabo en vacuolas formadas a partir de las membranas del aparato de Golgi y los virus se liberan cuando dichas vacuolas se fusionan con la membrana celular.

Las partículas virales se han observado tanto como acúmulos en las cisternas del aparato de Golgi, como en el proceso de extrusión a través del retículo endoplásmico. (Holmes I.H., 1971 ; Lyons and Heyduk, 1973).

PATOGENESIS. Se ha demostrado que por lo menos 12 de los bunyavirus - causan procesos patológicos en el hombre a partir de la picadura de los mosquitos vectores, siendo los más graves aunque de poca incidencia la encefalitis de California, la fiebre hemorrágica de Crimea y la fiebre del valle de Rift ; estos dos últimos no están agrupados dentro del supergrupo Bunyamwera, pero sí pertenecen a la familia Bunyaviridae.

En el caso de la encefalitis de California, la enfermedad se caracteriza por fiebre , cefaléa y alteraciones leves o graves del SNC, y aunque en general el proceso es benigno , en algunos casos el enfermo puede fallecer o quedar con secuelas leves (Bishop D.H.L., 1979).

Por otro lado, las enfermedades atribuidas a los virus bunyamwera son poco frecuentes y generalmente leves , sin ser su cuadro clínico muy claro , - pues puede haber ausencia de signos, manifestándose tan solo fiebre o cefaléa y mialgia . Por último los virus del grupo C producen solo cefaléa y fiebre , recuperándose los pacientes generalmente sin dificultad.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. La identificación del agente se hace mediante el aislamiento del virus, ya sea en cerebro de ratón recién nacido o en cultivos de células como los mencionados para los togavirus, o bien mediante reacciones serológicas de fijación del complemento, neutralización o IH.

EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL. Los virus del supergrupo Bunyamwera están ampliamente distribuidos , dependiendo esto de la existencia en determinadas áreas de los mosquitos vectores. Así los virus de la encefalitis de California se han aislado de los mosquitos Aedes melanison y Culex tarsalis en EEUU, Brasil, Mozambique, etc. Sus reservorios naturales no se conocen, pero se han detectado virus en la sangre de conejos, ardillas y ratones.

De los bunyavirus del grupo C no se conoce el mosquito que actúa como vector, pero es probable que sea del género Culex o Sabethinido, los reservorios naturales de estos virus son los monos y otros mamíferos selváticos como zarigüellas, ratas, etc. , y se encuentran en Florida, EEUU, Centroamérica y en la selva brasileña.

El grupo de virus bunyamwera que originalmente se obtuvo del mosquito Aedes aegypti, en Bwamba, Uganda, se ha aislado también de mosquitos del género Mansonia y Culex fatigans ; estudios serológicos han demostrado que los

chimpancés y algunos animales domésticos africanos exceptuando los que sean roedores o aves, sirven de reservorios. Es posible encontrarlos también en el sur de Asia, Colombia y EEUU.

Los bunyavirus pueden infectar a personas de cualquier edad o sexo, sin embargo se ha observado que por ejemplo el virus de la encefalitis de California afecta principalmente a niños.

Por otro lado, el control se realiza al igual que en los togavirus, a través de la erradicación de los mosquitos vectores y puesto que, en general los procesos patológicos que provocan estos virus en el hombre, no son graves, no se ha pensado aún en la producción de vacunas como una medida preventiva (Bishop D.H.L., 1979).

BIBLIOGRAFIA

Andrewes S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Ed. Baillieri Tindall and Co.Ltd. Great Britain, (1978).

Bishop D.H.L. and R.E. Shope: Bunyamviridae. Comprehensive Virology. Vol 14 pp. 1-132. Fraenkel-Conrat. Plenum Press, New York, (1979).

Casals J.: Relationships among arthropod borne animal viruses determined by cross tests. Amer. J. Trop. Med. 12:587, (1963).

Casals J.: Antigenic variants of EEE virus. J.Exp. Med. 119:547, (1964).

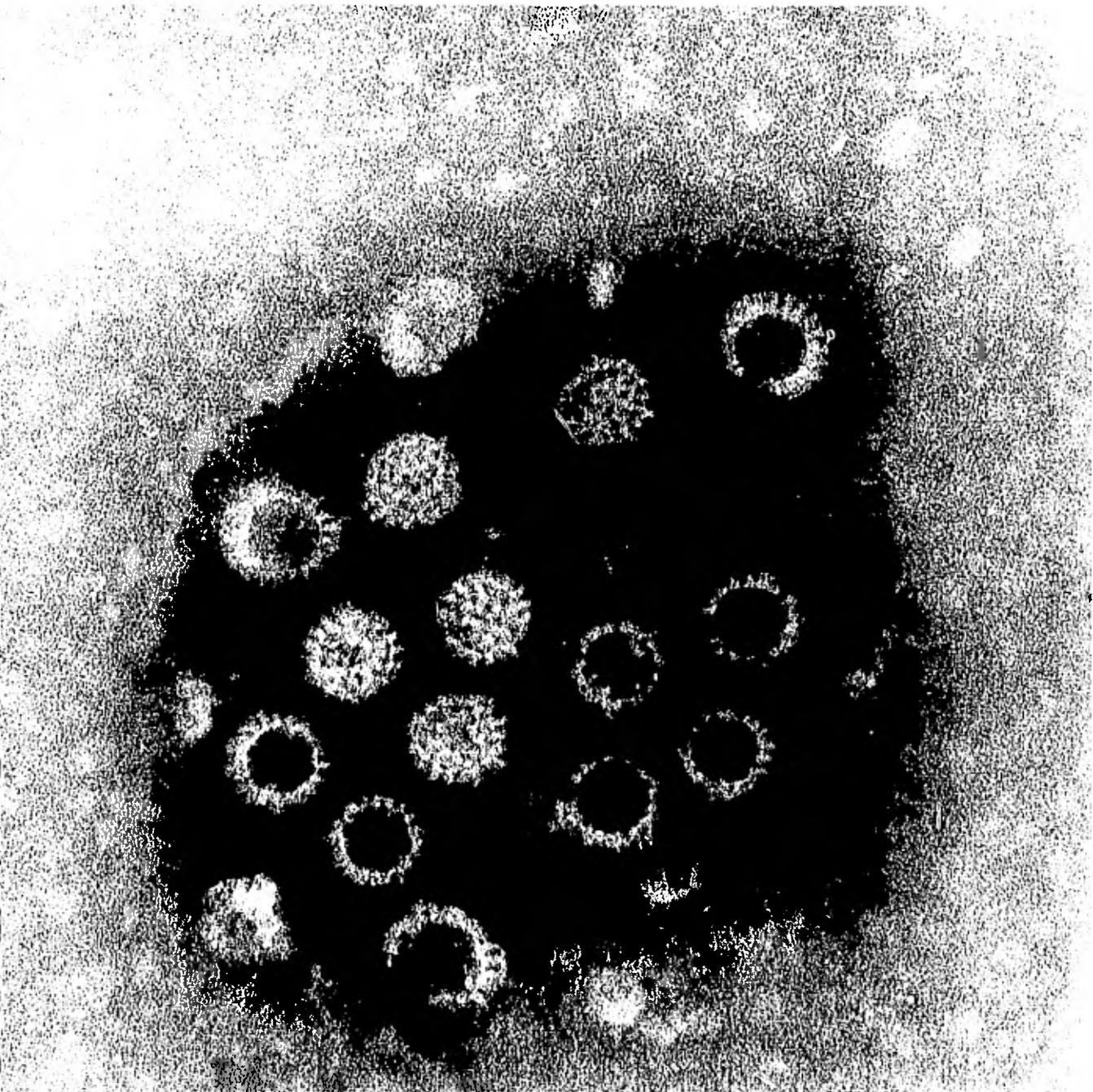
Holmes I.H.: Morphological similarity of bunyamwera super group viruses. Virology 43, 708-712, (1971).

Lyons and Heyduk : Aspects of the development morphology of californica encephalitis virus in cultured vertebrate and arthropod cells and in mouse brain. Virology 54 : 37, (1973).

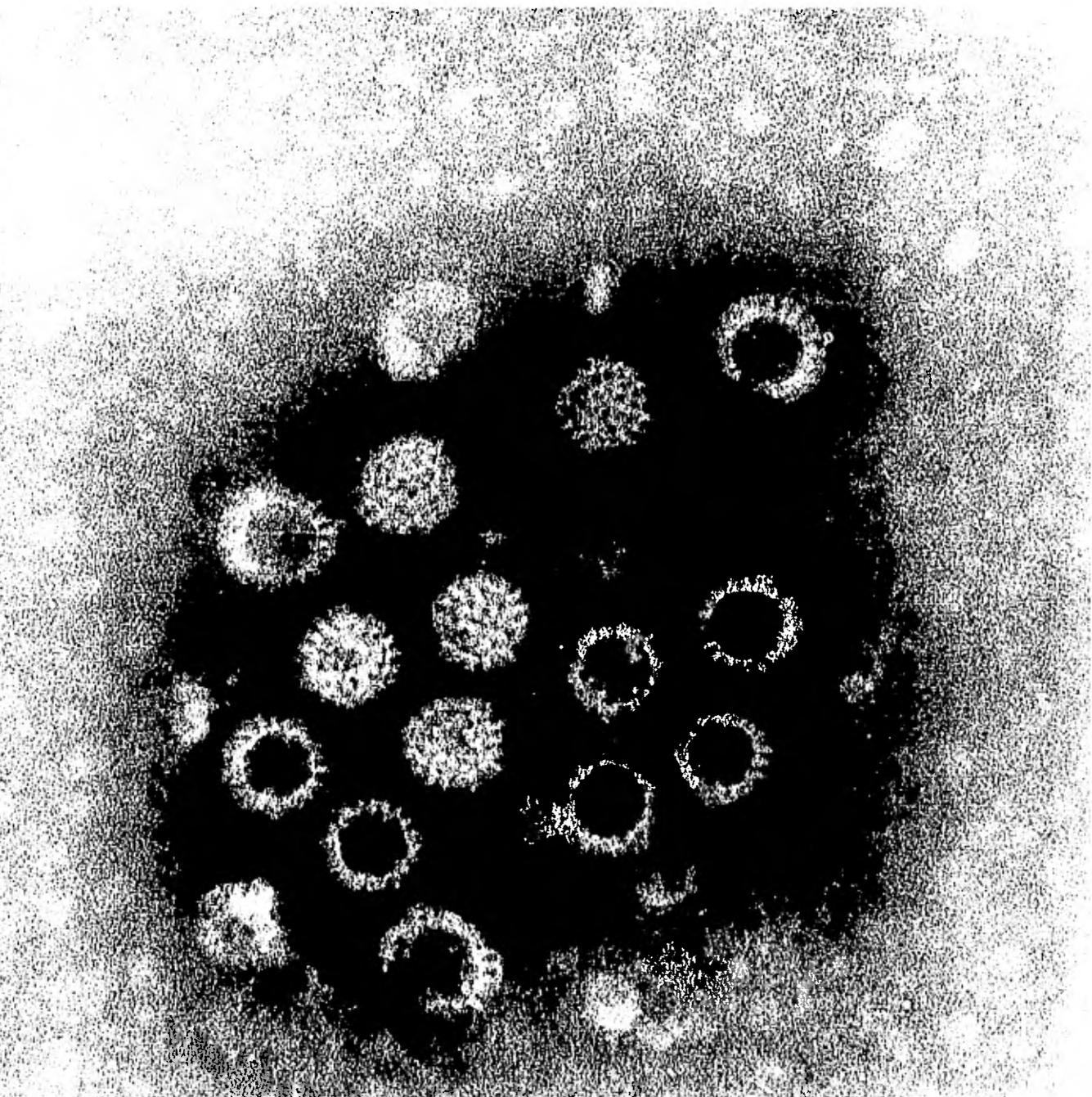
Petterson and Kaariainen : The ribonucleic acids of Uukuniemi virus. A non cubical tick borne arbovirus. Virology 56: 608, (1973).

Melnick J.L.: Taxonomy of viruses. Prog Med.Virol. 26: 214-232, (1980).

Renkonen et.al.: Exposure of proteins and lipids in the Semliki Forest virus membrane. J. Virol. 16: 1420, (1975).



ROTAVIRUS



ROTAVIRUS

REOVIRIDAE

CLASIFICACION. Con la palabra "Reoviridae" (Respiratory Enteric Orphan virus) se denomina a un grupo de virus que pueden infectar las vías respiratorias y el tubo digestivo. Dentro de esta familia se encuentran tres géneros que infectan a vertebrados y se han clasificado en :

R E O V I R I D A E	}	REOVIRUS	{ Tipos 1,2 y 3 Virus de las aves
		ORBIVIRUS	{ Virus de la fiebre del Colorado Virus Kemerovo Virus de la lengua azul de las ovejas
		ROTAIVIRUS	{ Rotavirus humanos Rotavirus de otros mamíferos, por ej. virus SA-11 de los monos, EDIM de <u>ra</u> tones.

Además existen otros miembros de la familia que infectan a plantas e in vertebrados (Ej. Phytoreovirus).

CRIOGRAMA . R/2; 127-131 x 10⁶/11- 20 x 10⁶; S/S; V/V

El comité Internacional para la Taxonomía de Virus , decidió agrupar a los virus que poseen las siguientes características en la familia Reoviridae:

- Un genoma de ARN bicatenario multisegmentado (10 o 12 segmentos), cada segmento con un PM dentro de un rango de 0.2 a 3 x 10⁶, encontrándose todos los segmentos encapsidados dentro de la partícula viral .

--Una cápside casi esférica de 60 a 80 nm de diámetro que exhibe simetría icosaédrica.

- Carecen de envoltura lipídica (B.H.Gorman, 1979).

Los miembros del género de los reovirus miden 70nm de diámetro, poseen aproximadamente un total de 127 capsómeros y un PM de 127 a 131 x 10⁶d. Los serotipos 1, 2 y 3 se distinguen por pruebas de neutralización y hemoaglutinación. Estos virus aglutinan eritrocitos humanos tipo "O" y de otros mamíferos. Provocan transtornos respiratorios y gastrointestinales, que la mayoría de las veces cursan como infecciones subclínicas sin gran importancia.

Por otra parte los orbivirus son un grupo de virus transmitidos por artrópodos (garrapatas) parecidos morfológicamente a los reovirus, de 55 a 88 nm de diámetro y con alrededor de 92 capsómeros (B.H.Gorman,1979) , producen enfermedades febriles agudas no exantemáticas de corta duración y evolución

favorable, por ejemplo, fiebre del Colorado, por lo que tampoco tienen demasiado interés desde el punto de vista clínico y su control se limita a la eliminación de los vectores.

En cambio, el tercer género de esta familia, el de los rotavirus, constituye un grupo de virus, que por ser agentes causales de gastroenteritis agudas y diarreas infantiles, que en ocasiones en niños muy pequeños llegan a ser fatales, han adquirido un papel importante como causa de morbilidad infantil, motivo por el cual su estudio merece especial atención.

ROTAVIRUS.

En los últimos años, debido a los altos índices de mortalidad y morbilidad causados por las gastroenteritis infantiles, se ha venido estudiando con mucho interés la etiología de estas, asegurándose desde hace tiempo, que no solamente las bacterias enteropatógenas y los parásitos son causantes de procesos gastrointestinales, sino que además los rotavirus juegan un papel muy importante, como se demostró en los experimentos realizados por Mebus en 1969 con filtrados de heces libres de bacterias, que después de inocularlos en animales de laboratorio, producían una infección gastroentérica.

Así, en 1973 Bishop y cols., analizando al microscopio electrónico las heces y biopsias duodenales, de individuos con gastroenteritis, descubrieron la presencia de ciertas partículas, cuya morfología, en las heces era similar a la de los reovirus, pero sin estar relacionadas serológicamente y el análisis de estas partículas en las biopsias, las hacían similares a los miembros del género de los orbivirus (M.S.Mc Nulty, 1978 ; I.H.Holmes, 1979).

PROPIEDADES GENERALES . Los rotavirus (del latín rota-rueda) se llaman así por la semejanza que presentan con los ejes de una rueda cuando se observan al microscopio electrónico . Su forma es esférica de 70nm de diámetro, y tienen una parte central o "core" de 35 nm, que constituye la cápside, dentro de la cual se encuentra el genoma de ARN. La cápside es una doble capa de naturaleza proteica, formada en su cara interna de 32 capsómeros mayores, envueltos en una delgada cubierta de 5 nm, formada por 180 subunidades más pequeñas (M.S.McNulty, 1979; Holmes, 1979). Cuando se tratan con quimiotripaina se observan partículas con una cápside simple, esto es sin la envoltura proteica.

El genoma de estos virus está formado por una doble cadena de ARN con un PM total de 11 a 12 x 10⁶d, compuesto de 11 segmentos cuyos pesos varían de

0.2 a 2.2×10^6 d. Dichos segmentos se pueden identificar por su movimiento electroforético, empleando esta propiedad para distinguir a los rotavirus humanos de los rotavirus animales, así como de los reovirus y orbivirus.

Los rotavirus no contienen lípidos, pero si algunos carbohidratos y 8 polipéptidos estructurales denominados de VP1 a VP8, cuyos pesos varían de 14000 a 133000 d, de los cuales 3 o 4 están asociados a la capa externa de la cápside. Recientemente Espejo y cols., demostraron que probablemente el virus solo esta integrado por 5 polipéptidos estructurales ya que los polipéptidos VP5 y VP8 son productos de degradación del VP3, cuando la partícula viral se trata con tripsina (R.Espejo, 1981).

Respecto a las propiedades fisicoquímicas, la densidad de flotación de las partículas sin doble cápside es de 1.38 g/ml en CsCl y la de las partículas completas es de 1.29 a 1.36 g/ml, siendo infecciosas solo estas últimas. Su coeficiente de sedimentación es de 520 a 530 S.

Los rotavirus de las distintas especies, difieren en su estabilidad a los agentes físicos y químicos, así los rotavirus de ternera son estables a pH 3, resistentes al cloroformo y éter, y relativamente estables a 50°C en presencia de MgCl_2 1M, mientras que los rotavirus de mono (SA11) a pH ácidos tienden a formar acúmulos y resultan más lábiles al calor, aunque se estabilizan con adición de MgSO_4 2M (M.K.Estes, 1978).

Los rotavirus humanos resisten el calentamiento a 56°C y son estables entre un rango de pH de 3 y 10. Resisten el tratamiento con proteasas, pero son fácilmente degradables cuando se incuban con alfa quimiotripsina en presencia de iones Cs (M.S.Mc Nulty, 1978).

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Los rotavirus humanos están relacionados antígenicamente con los rotavirus bovinos y de otras especies, esto ha sido demostrado por reacciones de inmunofluorescencia, inmunoelectromicroscopía y fijación del complemento. Por otro lado usando pruebas de neutralización, los resultados indican que existen por lo menos tres serotipos humanos, que podrían contener entre sí un antígeno común, permitiendo esto explicar la reactividad cruzada que estos virus presentan (G.M.Beards, 1980).

Además entre los rotavirus humanos y de otras especies, se pueden distinguir dos tipos: el 2S y el 2L con base al patrón electroforético que presenta su ARN (R.T.Espejo, 1980).

También se ha reportado que en los rotavirus bovinos existe una hemoaglutinina, de la cual solo se observa actividad cuando los virus son comple-

tos, por lo que parece que esta hemaglutinina y los demás determinantes antigénicos residen en la cápside externa del virión (Mc Nulty, 1978).

REPLICACION. La replicación de estos virus, parece ser que se lleva a cabo en el citoplasma celular. No se ha dilucidado su mecanismo exacto, pero puesto que su ARN es de doble cadena, tal vez suceda como en los reovirus, en los que primero se sintetiza, mediante la acción de una ARN polimerasa, un ARN de una sola cadena, que sirve como mensajero para iniciar la transcripción.

En cuanto a la morfogénesis, en cultivos de células (MA-104, LLMK-2) infectados con estos virus, se observan masas de material precursor de los viriones o viroplasma, acumulados alrededor del retículo endoplásmico rugoso, a las 8 horas después de la infección. Conforme el tiempo pasa, las inclusiones viroplásmicas aumentan concentrándose cerca del núcleo celular. También se observan, durante todo el tiempo de la infección, formas cristalinas de los virus dentro de unas estructuras parecidas a los lisosomas y dentro de algunas mitocondrias. De las 12 a las 20 horas, este efecto aumenta y las células se lisan, liberando a los virus (B.C. Altemburg et. al., 1980).

PATOGENESIS. Puesto que los virus se excretan por las heces podría sugerirse una transmisión orofeocal. La infección que producen es una gastroenteritis aguda con un periodo de incubación relativamente corto de 15 horas a 3 o 4 días, siendo los síntomas predominantes diarrea generalmente acuosa, con moco pero sin sangre, depresión, vómitos, anorexia, deshidratación y puede o no acompañarse de un cuadro febril, presentándose estos síntomas durante 4 a 8 días, aunque Flewett y cols. describieron casos de niños en los que la diarrea duró más de 30 días, encontrándose rotavirus en las heces hasta el 23avo. día. Los casos fatales se suelen presentar por complicaciones con infecciones bacterianas secundarias.

La infección por rotavirus no es sistemática y generalmente se localiza en el epitelio ciliado del intestino delgado, que es el sitio principal donde se lleva a cabo la replicación del virus; los virus son capaces de llegar hasta aquí debido a la capacidad que tienen de resistir el pH ácido del estómago. En infecciones experimentales en animales, se ha detectado también un antígeno viral en las células epiteliales del colon, ciego y en el estómago.

Los cambios histológicos en las células del intestino delgado consisten en el acortamiento del epitelio ciliado y sustitución por epitelio cuboidal o células escamosas, estas últimas parecen ser resistentes a las reinfeccio-

nes por rotavirus humano, además también se observa un incremento de células reticulares, infiltración de linfocitos y finalmente la regeneración completa.

El daño se manifiesta alterando las funciones digestivas y de adsorción, así como el peristaltismo, lo cual dá lugar al cuadro diarreico.

INMUNIDAD. Aunque existen pocos estudios acerca del mecanismo de inmunidad que provocan los rotavirus, se sabe que los anticuerpos producidos no inducen una inmunidad duradera.

Por otro lado, estudios experimentales en animales han demostrado que la inmunidad, y por lo tanto la protección contra la enfermedad, depende de la presencia de anticuerpos tipo IgA secretoria en el lumen del intestino.

Se ha observado una mayor frecuencia de infección en niños recién nacidos que no fueron alimentados con calostro y leche materna, ya que si la madre tuvo una infección natural, le proporcionará al niño anticuerpos específicos contra los rotavirus. Por otra parte se sugiere que si bien la leche materna no protege al niño de una infección, propicia que ésta sea menos severa. Los anticuerpos neutralizantes, entonces, parecen ser de tipo IgA, pero no se ha determinado con precisión la duración de la respuesta inmune de tipo IgA en el intestino (I.H.Holmes, 1979; A.Z.Kapikian, 1980).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico de las infecciones por rotavirus se basa en la detección y/o aislamiento de los virus o antígenos virales en las heces, para cuyo fin se pueden emplear la microscopía electrónica, inmunoelectromicroscopía, radioinmunoensayo (RIA), fijación del complemento, inmunofluorescencia, ELISA y contraelectroforesis en fase sólida. Esta última técnica resulta un método rápido y económico, pero su sensibilidad depende de la calidad del suero antiviral utilizado (P.J.Middleton, 1976). Por otro lado ELISA y RIA poseen la misma sensibilidad y resultan más accesibles que la microscopía electrónica, para la cual se necesita el microscopio y la experiencia en su manejo.

Además la especificidad y sensibilidad de las técnicas parece posible - que dependan de los distintos serotipos de rotavirus de que se trate. En estos casos un segundo tipo de diagnóstico descrito por Espeje y cols. (1980), con base en los diferentes patrones electroforéticos del ARN viral, dá una opción para la identificación de los rotavirus. Este método resulta de bajo costo pero se presenta el problema de que el tiempo para obtener resultados no es menor de 48 horas.

Los rotavirus SA-11 (de simio), NCDV (de ternera), EDIM (de ratón) y los rotavirus humanos son capaces de infectar líneas celulares de riñón de mono o ternera como son LLCMK-2, PK15, CV1, MA104 y MBDK etc., observándose en ellas un efecto característico denominado "efecto de bandera".

Por otra parte, S. Ramia (1979) y R. Espejo (1981), han reportado que si en el proceso de infección se adiciona tripsina durante el periodo de adsorción (1 hora a 37°C) puede favorecerse la infección virus-célula, lo cual da como resultado un aumento en la producción de partículas virales. Se ha observado además que esta enzima está en relación con la formación de placas de lisis en las células que han sido infectadas con rotavirus.

EPIDEMIOLOGIA. Los rotavirus son la causa de un alto porcentaje (52%) de las gastroenteritis agudas, afectando principalmente a niños recién nacidos durante los primeros meses de vida (de 6 meses a 2 años de edad), en los cuales se presentan las infecciones sintomáticas. En contraste, las reinfecciones en el adulto casi no presentan los síntomas clásicos de la infección cuya evidencia en estos casos, solo se puede detectar por pruebas de seroconversión, ya que rara vez se detecta el virus en la heces.

Los rotavirus se encuentran ampliamente distribuidos en todo el mundo y se ha observado que la mayor frecuencia, en algunos países, es en invierno, (K.Estes y Graham,1979), sin embargo, en México, Espejo y cols.(1978), encontraron que la máxima incidencia es en otoño, por virus que siguen el patrón 2L.

Por otro lado, debido a que la multiplicación del virus es en el intestino y se excretan por las heces, las infecciones en el humano, se piensa que pueden ocurrir a través de la vía orofecal o mediante el contacto con individuos y objetos contaminados. Se presenta un problema imperante cuando la infección ocurre en animales domésticos y en el ganado, ya que da lugar a la aparición de cuadros diarreicos y a un alto porcentaje de morbilidad y mortalidad.

Por último, en México, la frecuencia de infección por rotavirus observada en estudios sobre poblaciones hospitalizadas y no hospitalizadas representan unos porcentajes de 22% en el primer caso y del 17% en el segundo del total de casos de diarrea en niños menores de 5 años de edad. (R. Espejo y col. 1981).

TRATAMIENTO. No existe tratamiento específico contra la gastroenteritis viral y la terapia consiste solo en reestituir la pérdida de electrolitos, para evitar la acidosis y el shock producidos por la deshidratación debida a las severas diarreas que se presentan. Para este fin, se ha probado, la administración de agentes antidiarréicos como caolín, pectina, etc., pero no han resultado más útiles que por ejemplo las soluciones simples de glucosa y electrolitos (M.K. Estes y Graham, 1979).

En cuanto a la posible perspectiva de la vacunación como medida profiláctica contra la gastroenteritis causada por rotavirus, se ha llegado a la conclusión de que esta sería una buena medida para reducir los índices de morbilidad y mortalidad tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo.

Uno de los principales obstáculos para la fabricación de la vacuna, ha sido que los rotavirus humanos difícilmente se propagan en cultivos de células, por lo que los estudios se han encaminado en este sentido y recientemente se han logrado cultivar los tipos 1 y 2 humanos, después de su adaptación en lechones, mediante pases seriados en células de riñón de mono verde africano (A.Z. Kapikian et.al. 1980).

Además sería necesaria una vacuna que se administrara durante los primeros meses de vida por vía oral y que provocara una respuesta inmune de tipo IgA en la mucosa intestinal, ya que es la que más protege, porque se ha visto que si la inyección es intramuscular, la respuesta principal es de tipo IgG y este tipo de anticuerpos se digieren fácilmente en el estómago (Kapikian, 1980).

La obtención de una vacuna de virus atenuados e inmunogénicos, que sirvieran para provocar una respuesta intestinal local, y por lo tanto resisten a la enfermedad, se podría lograr por manipulación del genoma viral a través de selección, mutagénesis etc. (A.Z. Kapikian, 1980).

BIBLIOGRAFIA

- Andrewes S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Ed. Baillieri Tindall and Co.Ltd. London, (1978).
- Altenburg B.C., D.Y. Graham and M.K. Estes: Ultrastructural study of Rotavirus replication in cultured cells. J.Gen.Virol. 46: 75-85, (1980).

- Beards G.M., J.N. Pilfold, M.E. Thouless and T.H. Flewett : Rotavirus serotypes by serum neutralization. *J. of Med. Virol.* 5: 231-237, (1980).
- Espejo R.T., S. López and C. Arias : Structural polypeptides of simian rotavirus SA-11 and the effect of trypsin. *J. of Virol.* 37(1): 156-160, (1981).
- Espejo R.T. et. al.: Shift in the prevalent human rotavirus detected by ribonucleic acid segments differences. *Infection and Immunity* 27(2): 351-354, (1980).
- Espejo R.T. et.al.: Rotavirus gastroenteritis in hospitalized infants and young children in Mexico city. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 20: 239-354, (1978).
- Espejo R.T. et.al.: Presence of two distinct types of rotavirus in infants and young children hospitalized with acute gastroenteritis in Mexico city. *The J. of Infect. Dis.* 139(4) 474-477, (1979).
- Espejo R.T. et.al.: Different polypeptide composition of two human rotavirus types. *Infection and Immunity* 28(1), 230-237, (1980).
- Estes M.K. and D.Y. Graham : Epidemic viral gastroenteritis. *The American J. of Med.* 66: 1001-1006, (1979).
- Holmes I.H.: Viral gastroenteritis. *Prog. Med. Virol.* 25: 1-36, (1979).
- Kapikian A.Z. et.al.: Approaches to immunization of infants and young children against gastroenteritis due to Rotavirus. *Reviews of Inf. Dis.* 2(3), 459-469, (1980).
- Mc Nulty M.S.: Rotaviruses: Review Article. *J.Gen. Virol.* 40, 1-18, (1978).
- Ramia S. and S.A. Sattar: Simian rotavirus SA-11 plaque formation in the presence of trypsin. *J. of Clin.Microbiol.* 10(5), 609-614, (1979).
- Roseto A. et.al.: Structure of rotaviruses as studied by the freeze-drying technique. *Virology* 98, 471-475, (1979).
- Smith M.E. et.al.: A plaque assay for the simian rotavirus SA-11. *J. Gen.Virol.* 43, 513-519, (1979).
- Steinhoff M.C., MD.: Rotavirus: The first five years. *J. of Pediatrics.* 96(4), 611-622, (1980).
- Yolken R.H. et.al.: Epidemiology of human rotavirus types 1 and 2 as studied by Enzyme-linked immunosorbent assay. *The New England J. of Med.* 299(21) , 1156-1161 ,(1978).



Virus Rábico

RHABDOVIRIDAE.

CLASIFICACION. Esta familia incluye tres géneros:

RHABDOVIRIDAE	{	VESICULOVIRUS. Virus de la estomatitis vesicular.
		LYSSAVIRUS. Virus de la Rabia
		SIGMAVIRUS. Virus que afectan a los insectos.

El nombre de la familia proviene del latín rhabdos; varilla. Estos virus presentan una forma característica de proyectil que fué descrita por — primera vez en el virus de la estomatitis vesicular del ganado bovino (VSV) (Howatson, 1970; Knudson, 1973).

CRIOGRAMA: R/1; 3.5-4/3-4; U/E; V/O

PROPIEDADES GENERALES. Los miembros de ésta familia tienen una forma cilíndrica, con un extremo redondeado y el otro plano, en forma de proyectil, con un tamaño de 130 a 300nm., de longitud y 60 a 80 nm., de diámetro. Su PM es de 380 a 480 X 10⁶ d. Poseen una envoltura de naturaleza lipídica cubierta de peplómeros. Dentro de la nucleocápside de simetría helicoidal se encuentra el genoma de ARN monocatenario, el cual tiene un PM de 3.5 a 4 X 10⁶, un coeficiente de sedimentación de 40 a 45 S, una densidad en CaCl de 1.59 a 1.66 g/ml., y constituye del 3 al 4 % de la composición del virus.

COMPOSICION QUIMICA. Los virus contienen de un 64 a 67% de proteínas a las que se les ha designado como : L (PM 190 000), N (PM 50 000) y NS (PM — 40 000-50 000), que son proteínas que se encuentran formando parte de la nucleocápside; G (PM 69 000) que es una glicoproteína de la membrana y finalmente la proteína M no glicosilada también en la membrana.

Los carbohidratos que se han detectado formando parte de las partículas víricas incluyen glucosa, galactosa, manosa, glucosamina, etc. y constituyen del 3 al 10% del virus. Por otro lado, el análisis de los lípidos ha revelado la presencia de colesterol, fosfolípidos y glicolípidos en un 20 a 26%.

Respecto a sus propiedades fisicoquímicas, los rhabdovirus son sensibles a los solventes lipídicos, moderadamente sensibles al calor y estables a bajas temperaturas y a un pH entre 5 y 10. Su coeficiente de sedimentación

es de 600 a 625 S y su densidad igual a 1.16-1.20 g/ml.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Los rhabdovirus son capaces de hemoaglutinar los eritrocitos de pato y ganso a bajas temperaturas y a un pH de 6, - son muy sensibles a los inhibidores presentes en el suero, no poseen la enzima neuraminidasa y no destruyen los receptores celulares.

REPLICACION. Los rhabdovirus se replican como todos los demás virus de la clase V de la clasificación de Baltimore. Se ha detectado una actividad de ADN polimerasa y de una transcriptasa asociada al virión, que le permiten al virus iniciar el mecanismo de replicación, ya que su genoma no puede actuar como mensajero.

La replicación se lleva a cabo en el citoplasma, en él se efectúa la síntesis del genoma viral, así como la síntesis proteica, y el ensamblaje de las partículas. La liberación tiene lugar por gemación a través de la membrana citoplásmica. Los virus de la rabia se ensamblan asociados a "matrices citoplásmicas granulares" que corresponden a los Cuerpos de Negri. Estos cuerpos son acumulos masivos de material proteico viral muy valiosos para el diagnóstico citológico (D.L. Krudson, 1973).

VIRUS DE LA RABIA.

La rabia es la enfermedad infecciosa con mas alto índice de mortalidad. Su naturaleza infecciosa se detectó en 1804 y fué en 1884 que Luis Pasteur - indicó que el agente etiológico no era una bacteria, obteniendo al mismo tiempo la primera vacuna antiviral hecha por el hombre. Pasteur logró, a partir de 50 inoculaciones intracerebrales seriadas en conejos, obtener un virus "modificado" llamado virus fijo (a diferencia del virus salvaje o "callejero") y que utilizó para la vacunación. Antes de estos acontecimientos, el hombre vivió durante siglos con el temor al perro rabioso (del latín rabidus: loco).

Así mismo, después del descubrimiento del agente, en 1903 Negri describió la presencia de los cuerpos citoplásmicos que llevan su nombre en las células nerviosas del hombre y animales infectados.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Aunque existe en la naturaleza un solo tipo serológico importante de la rabia, se han descrito 4 serotipos en animales in-

fectados, que se distinguen por pruebas de inmunofluorescencia y neutralización cruzada. Respecto a los tipos de antígenos que poseen, se sabe que las proteínas N y M son específicas de los rhabdovirus y que la glicoproteína de la envoltura es el antígeno responsable de la inducción de anticuerpos neutralizantes.

PATOGENESIS. La puerta de entrada del virus en el hombre, se debe a la contaminación con la saliva de un animal rabioso, mediante mordedura ó por abrasión de la piel. El virus de la rabia se multiplica en el tejido muscular y conjuntivo y asciende hasta el sistema nervioso central por los nervios periféricos. En los perros y demás animales que transmiten la enfermedad (lobos, murciélagos, ratas, etc.) alcanza después las glándulas salivales, ya sea a través de los nervios eferentes o de la sangre y vasos linfáticos .

El periodo de incubación de la enfermedad es muy variable, oscilando en el hombre de 2 a 5 semanas. Este periodo dependerá de la cantidad de virus inoculado, así como de la distancia que debe recorrer el virus para alcanzar el sistema nervioso central desde la puerta de entrada, por lo tanto los periodos más cortos corresponderán a las mordeduras en cara, cuello y brazos.

El periodo prodrómico se caracteriza por irritabilidad, sensación de hormigueo en el lugar de la herida e hiperestesia cutánea. Una vez que se manifiesta la enfermedad, los signos y síntomas pueden ser: aumento en el tono muscular y dificultad en la deglución debido a las contracciones espasmódicas dolorosas de los músculos laringofaríngeos (hidrofobia nerviosa). A ésta fase siguen las crisis convulsivas que provocan la muerte en 3 a 5 días.

En el perro, el periodo de incubación puede variar desde 10 días hasta 8 semanas y se distinguen 3 fases en la enfermedad: 1) síntomas prodrómicos (fiebre, hidrofobia), 2) excitación (irritabilidad, nerviosismo) y 3) fase paralítica con crisis convulsivas y muerte por asfixia.

Desde el punto de vista patológico, la rabia es una encefalitis con de generación neuronal de la medula espinal y del cerebro. El dato patognomónico característico son los Cuerpos de Negri, que aparecen en las neuronas. Dichos cuerpos o inclusiones citoplásmicas, son esféricos u ovalados, de

2 a 10 micras de diámetro, eosinófilos, conteniendo en su interior granulos basófilos. Las fotografías al microscopio electrónico demuestran que estos cuerpos de inclusión son precursores de nucleocápsides víricas y viriones en gemación (Dean, 1963).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico de la rabia se establece en el hombre y los animales, mediante identificación de los cuerpos de Negri en el tejido cerebral o por aislamiento del virus. Para observar los cuerpos de Negri, se hacen improntas del tejido cerebral (cuerno de Ammon del hipocampo), que se tiñen por el método de Sellar, en el cual se utiliza un colorante compuesto por una mezcla de fucsina básica y azul de metileno, además también se emplea la inmunofluorescencia para confirmar la naturaleza específica de los cuerpos de inclusión. Si no es posible observar los cuerpos de Negri directamente, el virus debe aislarse inoculando saliva, tejido de glándulas salivales o cerebral, en ratones, por vía intracerebral. Después de 6 a 21 días los ratones presentan signos clínicos como parálisis y convulsiones, lo cual, junto con el hallazgo posterior de los cuerpos de Negri, proporciona el diagnóstico definitivo. Cabe mencionar que debido a que los anticuerpos aparecen muy lentamente no se pueden realizar técnicas serológicas para establecer un diagnóstico, el cual en éste caso, solo tiene valor retrospectivo (Johnson H.N. , 1979).

EPIDEMIOLOGIA. La rabia existe en casi todo el mundo. El hombre es un huésped no natural y no constituye un reservorio para la enfermedad. Los animales salvajes son los que resultan un peligro constante, siendo las mofetas, zorros, mapaches y comadrejas los reservorios naturales. En el caso de murciélagos y vampiros se ha comprobado que en estos animales el virus tiende a permanecer latente, sin embargo se puede multiplicar en la mucosa olfatoria y transmitirse por aerosoles que se inhalan por otros murciélagos, animales o el hombre. Además de la transmisión por mordedura de un animal infectado, o inhalación de aerosoles, y puesto que los vampiros anidan a veces en pozos o fosas, es probable que el virus se pueda transmitir también por agua contaminada.

Aunque la incidencia de rabia en el hombre, ha ido disminuyendo en forma continúa, la enfermedad sigue siendo enzootica en perros, mofetas y otros animales, lo cual representa un peligro potencial como se observa en repor-

tes de la OMS, que muestran alrededor de mil casos anuales.

Particularmente en México, los reportes del Boletín Epidemiológico de la SSA, muestran que en el año de 1980, se presentaron en total 66 casos y en 1981, 55 casos.

PREVENCION Y CONTROL. La rabia es una enfermedad que no tiene tratamiento específico, sin embargo, existen varios tipos de vacunas que se utilizan como medida preventiva para el control de la enfermedad en animales domésticos como perros y gatos. La OMS recomienda la vacunación obligatoria de estos animales, pero esta medida resulta ineficaz para los reservorios salvajes.

Para los perros y gatos se utiliza la vacuna tipo FLURY (cepas LEP-Low Egg Passage y HEP-High Egg Passage), la cual se prepara en embrión de pollo.

Las vacunas mas utilizadas son las obtenidas en tejidos nerviosos de conejo o cabra (Vacunas SEMPLE, FERMI y HEMPT), en las que el virus se inactiva con fenol, y la vacuna obtenida en embrión de pato (VEP) en la que el virus se inactiva con betapropiolactona.

Por otro lado, Fuenzalida y Palacios han utilizado el cerebro de ratón recién nacido para la elaboración de una vacuna de uso humano desde 1960, - en la que la inactivación del virus se hace por radiaciones con luz UV y t_{merosal}. Esta vacuna junto con la tipo SEMPLE son las que se utilizan en America Latina (Atanasiu P., 1979).

Respecto a los últimos adelantos, se han venido preparando numerosas vacunas experimentales para animales, originadas en cultivos celulares y de las que se han obtenido resultados satisfactorios (WHO Tec. Rep. Series - 1973). Sin embargo, el desarrollo y fabricación en cultivos celulares, de vacunas para el hombre, no ha sido tan rápido. De 1960 a 1974 se han venido probando diferentes sustratos preparados en líneas WI-38, células de riñón de hamster, fibroblastos de embrión de pollo, etc., para obtener virus para las vacunas, y la que mayor atención ha recibido es la vacuna antirrábica preparada por Wiktor y Koprowski, en un sistema de células diploides humanas (WI-38) llamada SCDH, y cuya mayor ventaja es que una sola dosis de ésta vacuna, administrada después del contagio experimental protege a una proporción mayor de monos, que 14 dosis de la vacuna VEP (G.S. Turner, 1978) y en estudios hechos en el hombre, los reportes indican que el 100% de los-

individuos vacunados con 3 dosis de un ml., muestran seroconversión, sin reacciones alérgicas, salvo las locales, y solo un 2 a 9 % presentan síntomas sistémicos (S.A. Plotkin, 1980). Lo más notable de ésta vacuna es su gran inmunogenicidad y la ausencia de reacciones, no obstante, no todos los investigadores están de acuerdo en su uso, ya que el control comercial de las células diploides humanas es complicado y la concentración final del producto vírico hará que la vacuna sea cara.

Una posibilidad aparte de la búsqueda de nuevos sustratos, es el uso de interferón, para aumentar la protección, y aunque no se ha dilucidado claramente su papel, se cree que podría bloquear las primeras etapas de la replicación del virus en el músculo (S.A. Plotkin, 1980).

ADMINISTRACION DE LA VACUNA. Para la aplicación de la vacuna antirrábica en el hombre, existen ciertas reglas estipuladas por el Comité de Expertos de la OMS en las que se toman en cuenta muchos factores:

1. Tratamiento local de la herida. Las medidas profilácticas tienen como objetivo limitar el virus al punto de entrada; el tratamiento local de la herida se basa en la limpieza a fondo con agua jabonosa, alcohol, soluciones yodadas y aplicación tópica de suero antirrábico.

2. Si el contacto con el animal rabioso ha sido indirecto, o si éste solo lamó la piel intacta, se considera que no ha habido exposición a la rabia y la vacuna no está recomendada.

3. En caso de lamedura en piel escoriada o arañada, ó una sola mordedura leve que no halla sido en la cabeza, cuello cara o dedos de la mano, se inicia la vacunación, interrumpiéndose si el animal sigue sano después de 10 días de observación. En caso de que el animal presente la rabia durante este periodo, se prosigue la vacunación, junto con la administración de gamma globulina.

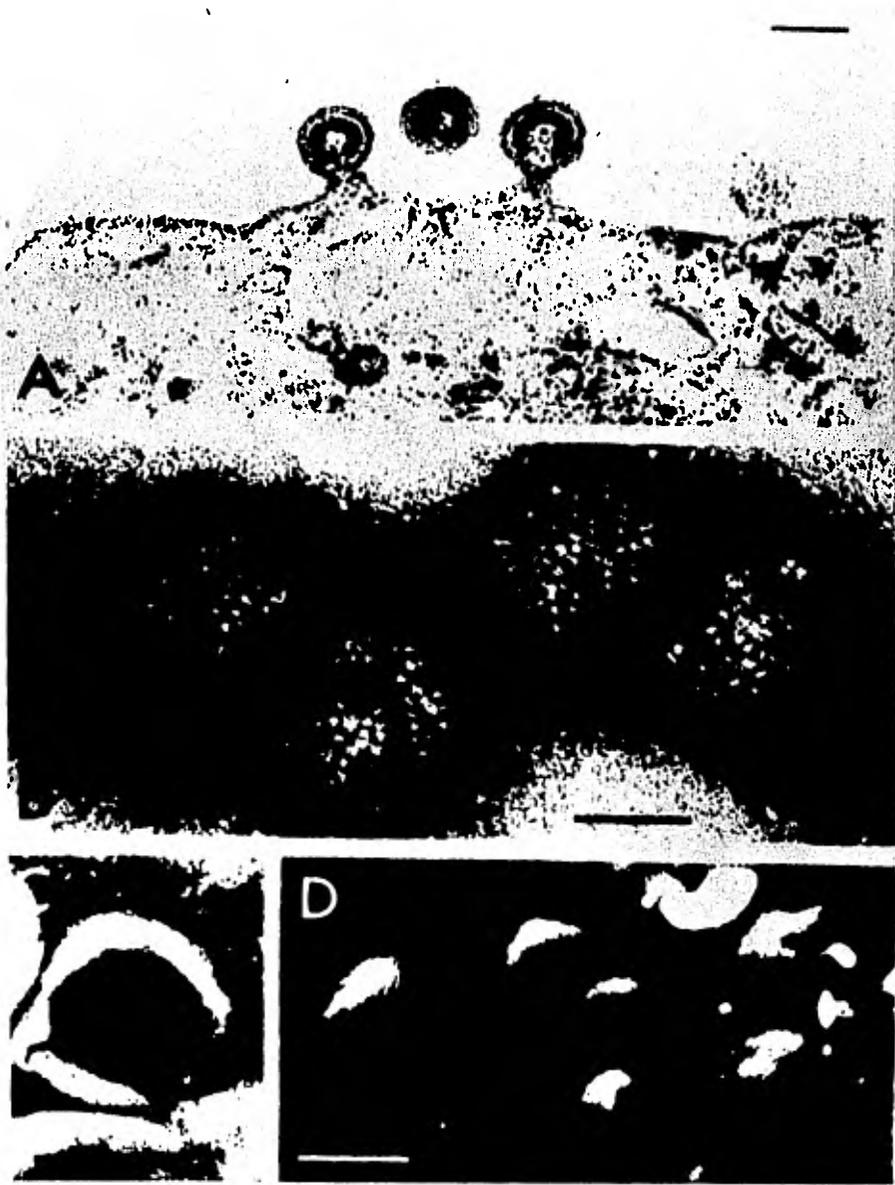
4. En caso de que el animal doméstico o salvaje, sospechoso de rabia, no pueda ser sometido a observación, se administra la vacuna .

5. Si hubo lamedura de las mucosas o las mordeduras son graves, múltiples y situadas en cara, cabeza y cuello o dedos de la mano, aunque el animal no se halla tenido en observación se administran conjuntamente gamma globulina y vacuna, suspendiéndose el tratamiento en caso de que el animal, no presente los síntomas después de 10 días.

De preferencia el tratamiento se realiza con vacuna VEP, ya que se sabe que las vacunas preparadas a partir de tejido nervioso, llevan mayor riesgo de producir accidentes neurológicos (encefalitis desmielinizante) - debido a la aparición de una hipersensibilidad frente al tejido nervioso, sin embargo, generalmente, el largo periodo de incubación de la enfermedad permite que la inmunización activa de lugar a la producción de un título adecuado de anticuerpos antes de que el virus alcance el sistema nervioso central.

BIBLIOGRAFIA

- Andrewes, S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Ed. Baillieri Tindall and Co.Ltd, London, (1978).
- Atanasiu, P.: Datos nuevos sobre la prevención contra la rabia humana antes y después de la exposición. Vacunas nuevas. Sal.Pub.Méx. XXI: 331-341, (1979).
- Dean, D.J., Evans W.M. and McLure, R.C.: Pathogenesis of rabies. Bull WHO. 29: 803, (1963).
- Howatson, A.F.: Vesicular stomatitis and related viruses. Adv. Virus Res. 16: 196, (1970).
- Johnson H.N.: Rabies. In Diagnostic procedures for viral, Rickettsial and chlamidial infection. pp. 843. (E.H.Lennette and N.J. Schmidt, eds.) American Public Health Association, Inc. Washington D.C., (1979).
- Knudson D.L.: Rhabdoviruses. J.Gen.Virol. 20, 105-130, (1973).
- Plotkin S.A.: Rabies vaccine prepared in human ocell cultures: Progress and perspectives. Reviews of Inf. Dis. 2(3) : 433-448, (1980).
- Plotkin S.A., Wiktor T.J.: Rabies vaccination. Ann. Rev. Med. 29:583-591, (1978).
- WHO Expert committee on rabies. 6th Report. World Health Organization Technical report series No.523, Geneva, (1973).



Leucovirus

RETROVIRIDAE

En esta familia se encuentra comprendido un grupo muy extenso de virus que frecuentemente se han asociado con la formación de tumores. En 1911 Roux identificó por vez primera un virus tumoral al cual propuso como el agente — causal del sarcoma de los pollos (sarcoma de Roux). En ese tiempo, Ellerman y Bang demostraron que la leucemia en pollos era transmisible a través de la inoculación en animales, de extractos celulares libres de bacterias (H. Temin 1972) y desde entonces, este tipo de virus, que actualmente se denominan retrovirus, se han visto involucrados en muchos procesos biológicos, independientemente de la carcinogénesis, tales como mutación somática, malformaciones embrionarias, etc. Existen otros virus, aparte de los retrovirus, que usualmente no se asocian con la formación de tumores en condiciones naturales, pero que sin embargo se ha demostrado que son oncogénicos en condiciones especiales de laboratorio y entre los que tenemos a los miembros del grupo de los papovavirus, adenovirus y herpesvirus.

CLASIFICACION. La familia Retroviridae incluye los siguientes géneros:

R E T R O V I R I D A E	{	ONCOVIRUS	{	TIPO C	{	Virus de la leucemia en ratones y pollos Virus del sarcoma de Roux Virus del sarcoma de otros animales como gatos, vacas, monos, etc.
			{	TIPO B	{	Virus del tumor mamario del ratón
	{	ESPUMAVIRUS	{	Virus Espumosos	{	Virus sincicial y espumoso de humanos, monos, gatos y ganado.
			{	LENTIVIRUS	{	Virus de la Neumonía Progresiva (PPV).

CRIPTOGRAMA. R/1 ; 7 -10/1 ; S/S ; V/O

Los retrovirus se han encontrado en una gran mayoría de animales vertebrados. Las características de la familia incluyen su diámetro aproximado de 100nm, la presencia de una cubierta lipoproteica y su genoma de ARN monocatenario.

ONCOVIRUS

PROPIEDADES GENERALES. La mayoría de los oncovirus, oncornavirus o leucovirus, están clasificados como partículas tipo "C", que son estructuras con un nucleocido central esférico cubierto por una envoltura ; partículas "B" —

representadas por unidades que poseen un nucleocápside de simetría helicoidal, denso excéntrico, con una cubierta formada por una membrana con proyecciones; las partículas tipo "A" se consideran formas precursoras que pueden encontrarse como anillos completos o incompletos dentro de una membrana, pueden localizarse en el citoplasma o bien dentro de los organelos celulares en donde su función es desconocida (J.M. Bishop, 1978).

Los virus tipo C se han relacionado específicamente con procesos leucémicos y sarcomas, en tanto que las partículas B se detectan principalmente en tumores mamarios del ratón.

Estos virus contienen de 60 a 70% de proteínas, un 20 a 30% de lípidos, 2% de carbohidratos y 1% de ARN.

Se han encontrado moléculas de ARN de diferentes tamaños en los virus. Un ARN de un peso aproximado de 10^7 que integra el 70% del ARN total y que se considera como el genoma viral. Otro ARN asociado al virus, es un ARN 4S constituido fundamentalmente por ARN de transferencia; existe además un componente 7S cuya naturaleza es incierta y se ha descrito para otras unidades de 27S y 17S una actividad de ARN ribosomal. Finalmente también ha sido reportado un ARN 4S que actúa como "iniciador" endógeno para la transcripción de ADN a partir del genoma de ARN viral. Aunque se ha observado la presencia de estos tipos de ácidos nucleicos en los virus, no se descarta la posibilidad de que sean contaminantes de origen celular.

El análisis de la composición proteica muestra de 10 a 12 polipéptidos estructurales. La proteína más grande está formada de 4 o 5 polipéptidos con especificidad antigénica de grupo (Ag interno); además contienen dos glicoproteínas con especificidad antigénica de tipo o cepa (Ag externo), las cuales pueden detectarse por reacciones de neutralización.

En los virus purificados, se han detectado varias actividades enzimáticas como transcriptasa reversa, nucleasas, ADN ligasas, fosfatasas, proteinasas etc.

Formando parte de las propiedades físicoquímicas de los oncovirus tenemos su densidad en sacarosa, que es de 1.16 g/ml, su sensibilidad al tratamiento con éter, su gran inestabilidad y su relativa resistencia a la radiación con luz UV (J.M. Coffin, 1979).

REPLICACION. La primera etapa en el ciclo de replicación de los retrovirus es la adsorción de éstos a los sitios receptores de la célula huésped.

Las glicoproteínas de la envoltura viral facilitan la adsorción y penetración. Enseguida el genoma viral se libera dentro de la célula.

Los retrovirus se replican con intervención de un híbrido de ARN-ADN y un intermediario de ADN-ADN. La presencia de este intermediario se dedujo a partir del efecto de sustancias inhibitoras, ya que solo cuando se añadía - 5BDUR (5 bromo desoxiuridina) al cultivo celular en el momento de la infección, se inhibía la replicación. En cambio, la Actinomicina D era capaz de - inhibir completamente la replicación, puesto que bloquea la transcripción del intermediario de ADN para producir ARN vírico.

Para la formación del híbrido de ARN-ADN se requiere de una transcripta sa reversa, y para la síntesis del dímero ADN-ADN es necesaria la presencia de una ADN polimerasa. El intermediario de ADN se integra al genoma celular, después de adoptar una forma circular y de esta forma se ha observado que al aislarlo, posee poder infectivo (PROVIRUS).

Una vez integrado el provirus, se inicia la síntesis de ARN vírico para la formación de nuevas partículas, o bien, se puede dar lugar a la formación de neoplasias; sin embargo la transformación neoplásica no es una consecuencia inevitable de la replicación viral. Además el genoma viral puede quedar integrado indefinidamente y transmitirse de generación en generación a las células hijas, pudiendo al cabo de un tiempo, manifestarse y ser la posible - causa de los procesos oncogénicos espontáneos, o bien la transmisión de la - información puede ser a través de la replicación e infección continua de los virus.

CICLO REPLICATIVO

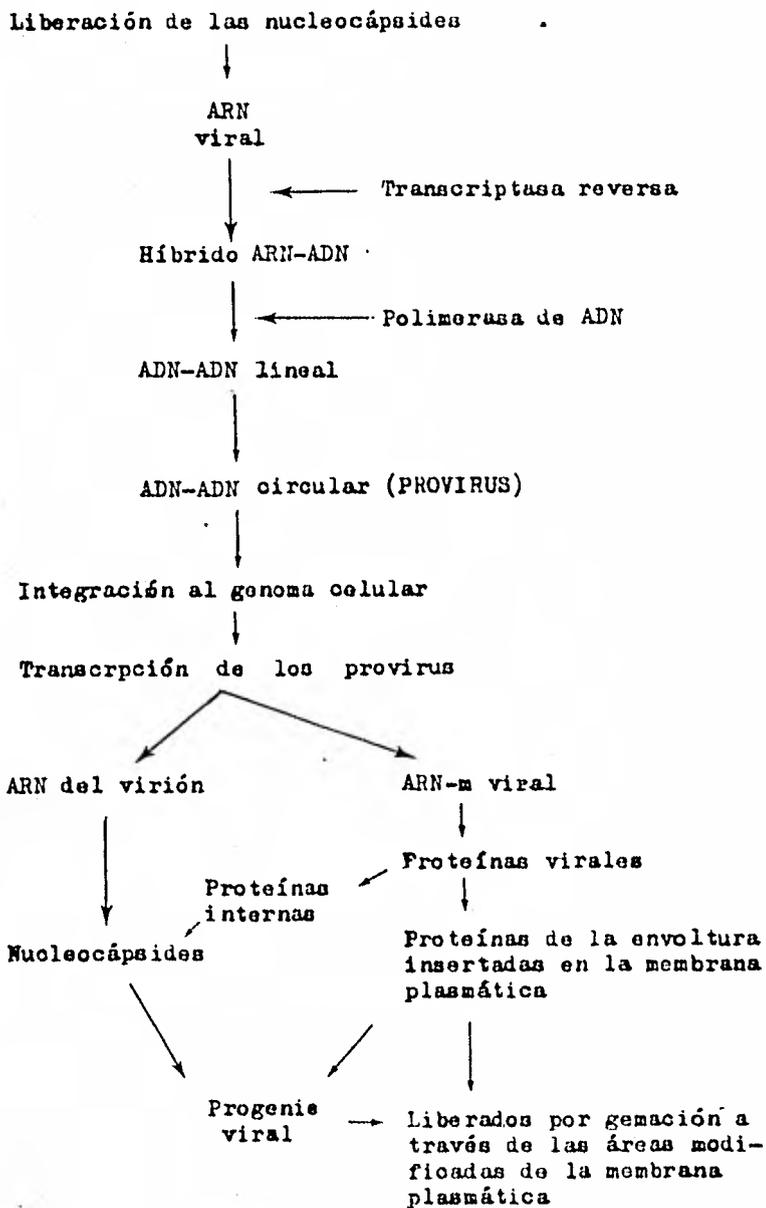
Interacción glicoproteínas virales- receptor
de superficie celular
(ADSORCION)



Fusión envoltura viral-Membrana celular
(PENETRACION)



Liberación de las nucleocápsidas



Una característica importante respecto a los virus responsables de leucemias y sarcomas, es que los primeros poseen una notable capacidad para establecer relaciones simbióticas con las células huésped in vitro, o sea, que la mayoría de las veces, los virus se multiplican en las células, pero no las destruyen ni afectan su morfología ni su función. En cambio los virus que producen sarcomas presentan varias diferencias: éstos virus tienen una eficacia oncogénica del 100%, lo cual quiere decir que tanto en los animales como en los cultivos celulares, la totalidad de las células infectadas se transforma; las células transformadas presentan alteraciones visibles que originan la formación de "focos" en los cultivos celulares, facilitando su detección.

Por otro lado, la transmisión en forma natural de un animal a otro no se produce, aunque al igual que los leucovirus, se transmiten de células a células.

Respecto a la posible relación de estos virus con las neoplasias humanas, los estudios se han encaminado hasta el momento, a comprender perfectamente su mecanismo de replicación, y como ya se tiene la certeza de que los genomas virales pueden permanecer latentes en células de ratones y otras especies, se han propuesto varias teorías para explicar este hecho, y su relación con los genes celulares. La interpretación más simple, consiste en que los genomas virales se encuentran integrados en forma de provirus, y son transcritos después para producir ARN vírico por acción de un inductor, y que los genes celulares que controlan la expresión del genoma vírico, podrían controlar también su transcripción.

La teoría oncogénica de Huebner y Todaro, señala que los genomas latentes se integraron hace millones de años en forma de "oncogenes" y posteriormente evolucionaron para dar lugar a funciones normales del organismo. La de-represión de éstos genes oncógenos en fases tardías de la vida, daría lugar a la aparición de neoplasias aparentemente espontáneas (Todaro y Huebner 1972).

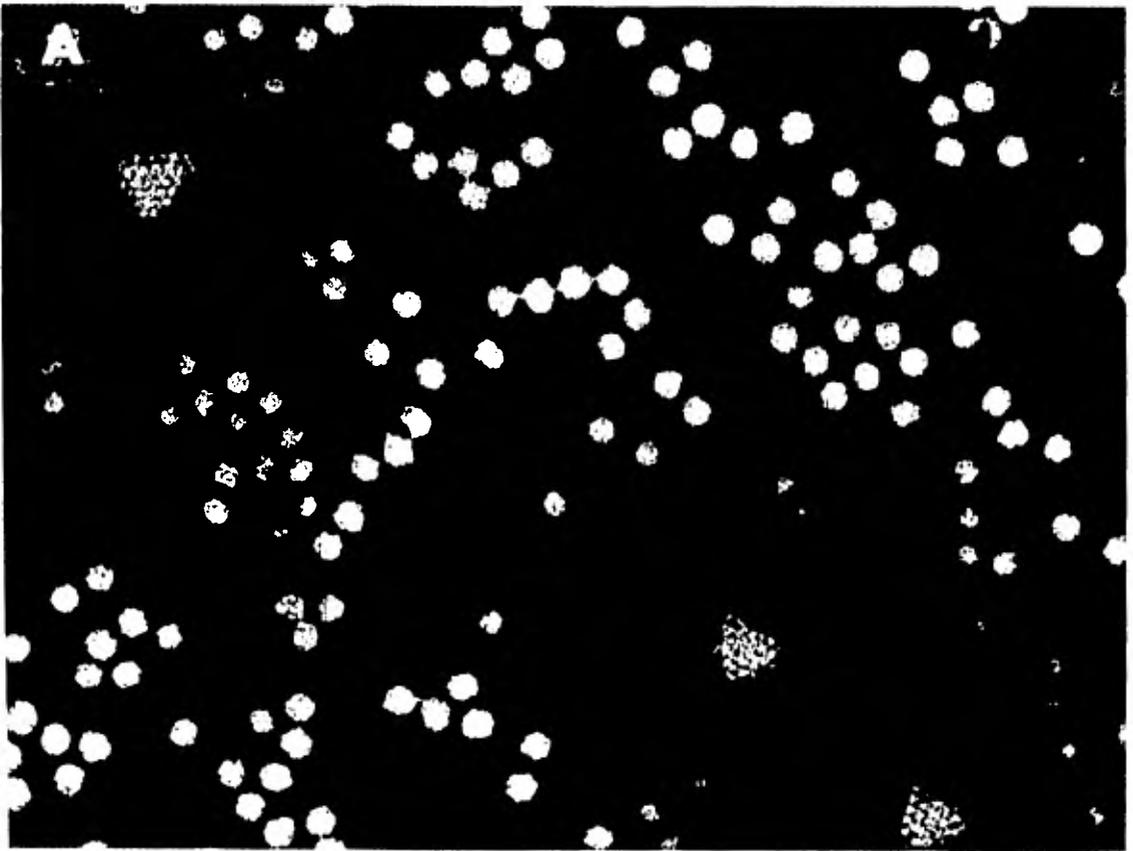
Por otra parte Temin ha sugerido la teoría del "protovirus", en la que el cambio se origina por una serie de transmisiones sucesivas de información de ARN a ADN y de nuevo a ARN, que es lo que ocasiona la modificación de la infección original. Estos cambios ocurren normalmente por procesos fisiológicos, pero se pueden favorecer por agentes carcinogénicos y tendrían como consecuencia un error en la evolución de las células, que ocasionaría la trans-

formación neoplásica (Temin, 1972).

Sin embargo, estos conceptos no dejan de ser hipótesis en cuanto a la etiología del cancer humano, pero en animales, los virus tumorales de ARN son excelentes modelos para el estudio de los mecanismos de inducción de neoplasias, y a lo más que han llegado los datos experimentales, es a plantear una serie de hechos que determinan cuando un virus NO es el agente causal de un cáncer humano, por ejemplo, la ausencia del genoma vírico en las células cancerosas, ya que en todos los sistemas experimentales con células cancerosas se observa la presencia del genoma viral.

BIBLIOGRAFIA

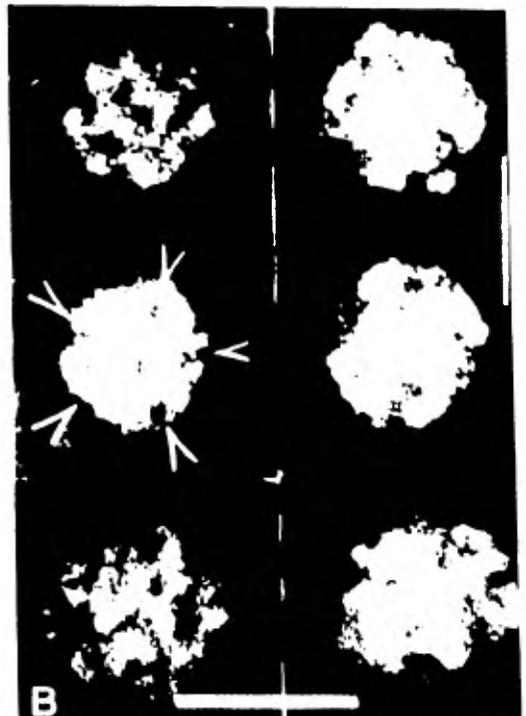
- Bishop J.M.: Retroviruses. Ann. Rev. Biochem. 47: 35-88, (1978)
- Coffin J.M.: Review. Structure, Replication, and Recombination of Retroviruses genomes: Some Unifying hypotheses. J. gen. Viro., 42: 1-26, (1979)
- Gilden R.V., and Orozlan S.: Groups-specific antigens of RNA tumor viruses as markers for subinfectious expression of the RNA virus genome. Proc. Natl. Sci. 69:1021 (1972).
- Temin H.: The RNA tumor viruses. Background and foreground. Proc. Natl. Academic. Sci. 69:1016, (1972) USA.
- Temin H. and Baltimore D.: RNA-directed DNA synthesis and RNA tumor viruses. Adv. Virus. Res. 17:129, (1972)
- Todaro G.J., and Huebner R.J.: The viral oncogene hypothesis: New evidence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 69:1009 (1972)



PARVOVIRIDAE

A.- Virus Adenoasociados
junto con un adenovirus
auxiliar ó "helper"

B.- VAA-4



CAPITULO VII. VIRUS DE ADN

PARVOVIRIDAE

Los virus de la familia Parvoviridae presentan un interés especial por su pequeño tamaño (parvo-pequeño), porque son los únicos virus de ADN monocatenario y por sus características especiales de propagación en los cultivos celulares.

Esta familia se divide en los tres géneros siguientes:

P A R V O V I R I D A E	}	PARVOVIRUS	{ Virus de la rata Kilham Virus latentes H1 y H3 Virus X14, LS, HB etc. Virus de la panleucopenia de gatos y visones Parvovirus bovinos (RADEN) Virus de la gastroenteritis humana (posible miembro)
		VIRUS ADEMO ASOCIADOS (VVA)	{ VAA de primates tipos I,II,III y IV VAA de bovinos VAA de aviares
		DENSOVIRUS (infectan invertebrados)	{ Densovirus de los lepidópteros, Galleria nelloella y otras especies de insectos.

CRIPTOGRAMA . D/1; 1.5-2.2/25-34; S/S; V/i

CARATERISTICAS GENERALES. Los virus de la familia Parvoviridae miden de 18 a 26 nm, tienen simetría icosaédrica y carecen de envoltura. Están formados de 32 capsómeros de 3 a 4 nm cada uno.

Su genoma es un ADN lineal monocatenario con un PM de 1.5 a 2.2 x 10⁶ d el cual constituye del 25 al 34% del peso total del virus.

En el caso de los parvovirus la cadena de ADN es (+) y los adenoasociados presentan la característica especial de que su cadena puede ser (+) o (-), las cuales al ser extraídas del virus resultan complementarias.

La relación G+C es igual para toda la familia y es de 41 a 53%.

COMPOSICION QUIMICA. El análisis en gel de poli(acrilamida) ha revelado para los parvovirus y virus adenoasociados, tres polipéptidos estructurales cuyo PM varía dentro de un rango de 60000 a 90000 d. El porcentaje de cada polipéptido en los parvovirus y en los adenoasociados también varía, para su -

identificación algunos autores los designan como A, B y C (Salzman y White, 1970), mientras que otros los designan como VP1, VP2 y VP3 y se sugiere el hecho de que uno de ellos presente una actividad de ADN polimerasa.

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS. Estos virus tienen una densidad en CaCl de 1.38 a 1.46 g/ml, presentando diferentes bandas. Para los parvovirus se han reportado "partículas ligeras" cuya densidad es de 1.31 a 1.36 g/ml, las cuales tienen poco o carecen de ADN y no son infectivas; "partículas infectivas" de 1.40 a 1.43 g/ml de densidad y "partículas densas" con 1.44 a 1.47 g/ml, encontrándose estas en bajo porcentaje.

Los parvovirus y adenoasociados son resistentes al éter, cloroformo, enzimas proteolíticas y desoxicolatos, son muy estables al calor y a pH entre 3 y 9.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Por pruebas de inhibición de la hemaglutinación se distinguen 2 serotipos de parvovirus; por neutralización, fijación del complemento o pruebas de precipitación se observan para los virus adenoasociados de primates 4 serotipos denominados VAA tipo I, VAA tipo II, VAA tipo III, y VAA tipo IV. Estas pruebas también han revelado que ciertos virus adenoasociados y parvovirus muestran reactividad cruzada entre sí, por ejemplo, el virus latente de la rata está relacionado con el HI, H3, X14 y IS, y dentro de los adenoasociados se presenta reactividad cruzada entre los tipos II y III.

HEMOAGLUTINACION. Los virus de esta familia son capaces de aglutinar a los eritrocitos humanos tipo O y a los de cobayo, pero hay diferencias cuantitativas en los títulos de hemoaglutinación entre los diferentes virus con los eritrocitos de diferentes especies. La hemoaglutinación se puede llevar a cabo a 4°C, 20 o 37°C, y a pH entre 6.6 a 8.5 sin que se afecten apreciablemente los títulos de hemoaglutinación.

Los virus no se eluyen espontáneamente a temperaturas de 37 a 40°C, sin embargo cuando los eritrocitos aglutinados se resuspenden en una solución amortiguadora alcalina de pH 9, los virus pueden eluirse a temperatura ambiente sin ocasionar destrucción de los sitios receptores de los eritrocitos (T. W. Tinsley, 1973).

REPLICACION. Los parvovirus tienen un genoma de ADN monocatenario y estudios realizados indican que el ADN inicial sirve de molde para la formación de una cadena complementaria, dando lugar así a un ADN bicatenario, una de

de las cuales se transcribe a ARNm para posteriormente dar lugar a la síntesis de proteínas estructurales víricas, mientras que la otra sirve como templado para la formación del nuevo genoma viral.

CULTIVOS CELULARES. Los virus adenoasociados son deficientes o defectivos, lo cual significa que para su replicación dependen totalmente de la multiplicación de otro virus que ejerce la función de auxiliar o "helper". Generalmente esta función la presentan los adenovirus y en algunas ocasiones también los herpesvirus. Se desconoce la manera de como los virus auxiliares — (helper) ayudan a los VAA; al parecer la cantidad de información genética que esta contenida en el ADN de los VAA es mínima para que el virus pueda replicarse por sí mismo, por esta razón se cree que los adenovirus confieren parte de su información, observándose además que en presencia de herpesvirus, los VAA sintetizan ciertos antígenos virus-específicos.

Otro aspecto es el hecho de que cuando los adenovirus actúan como auxiliares su replicación queda inhibida y su capacidad oncogénica en hámsters se ve disminuida.

Los parvovirus no requieren de un virus "auxiliar" para su replicación (a excepción del H1 y H3), pero si necesitan que las células huésped se encuentren en una fase activa de replicación, mostrando una marcada selectividad sobre líneas celulares continuas, ya sea de tejidos de rata, humanos o de simio.

IMPORTANCIA. Las infecciones causadas por parvovirus, han tenido en los últimos años, mucho interés en el área Veterinaria. Desde 1970, Binn y cols. reportaron la presencia en cánidos clínicamente sanos, de un virus del grupo de los parvovirus al que llamaron "minute virus" o virus minúsculo.

En 1976, con base en estudios serológicos, se estimó que éste virus estaba ampliamente difundido en la población canina de EEUU., pero no se le reconoció acción patógena.

En febrero de 1978, Carmichael, observó en los estados del este de los EEUU., brotes de una gastroenteritis altamente contagiosa, a veces fatal, caracterizada por vómito y diarrea con frecuencia hemorrágica que atribuyeron a un coronavirus; sin embargo ellos mismos observaron con microscopía electrónica la presencia de un parvovirus en las heces de un perro con diarrea; aunque en ese tiempo se consideraba que se trataba de dos nuevas enfermedades no descritas previamente (Appel, 1979).

A fines de 1978, la enfermedad estaba diseminada en la mayor parte de

los EEUU, y a partir de esa fecha se han presentado múltiples brotes de gastroenteritis y miocarditis asociadas con parvovirus, en diferentes países — del mundo : Canadá, Gran Bretaña, Francia, Suiza, Alemania, Holanda y posiblemente tenga ya una distribución mundial. Se desconoce el origen del brote inicial de esta nueva enfermedad.

Particularmente en México, a mediados de junio de 1980 se empezaron a recibir en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la UNAM, cada vez con mayor frecuencia cadáveres de cánidos que habían muerto con un cuadro gastroentérico agudo.

En la necropsia se encontraron en todos ellos lesiones gastroentéricas con frecuencia similares a los de panleucopenia felina. Por lo anterior se realizaron estudios de los brotes gastroentéricos en México para determinar si estos brotes eran causados por parvovirus .

Los antecedentes, los aspectos clínicos y las lesiones macroscópicas e histológicas observadas, en los cánidos con problema gastroentérico estudiados mostraron que se estaba ante una nueva enfermedad no reconocida anteriormente en México, causada por parvovirus y que en algunos aspectos corresponden con los de panleucopenia felina.

Dado que experimentalmente algunos autores reproducen con dificultad el cuadro de gastroenteritis hemorrágica fatal es de suponer que en la naturaleza, este agente se ve influido por una gran cantidad de factores que le permiten establecerse y producir lesiones severas en el animal.

En México restan gran cantidad de dudas por resolver, las primeras deberán ser en relación con la observación y el aislamiento del agente causal, la reproducción experimental de la enfermedad, así como los factores con que se relaciona. (Stephano H.A., 1980).

BIBLIOGRAFIA

Appel M.J.et.al.: Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. The Veterinary record. 25:156-157, (1979).

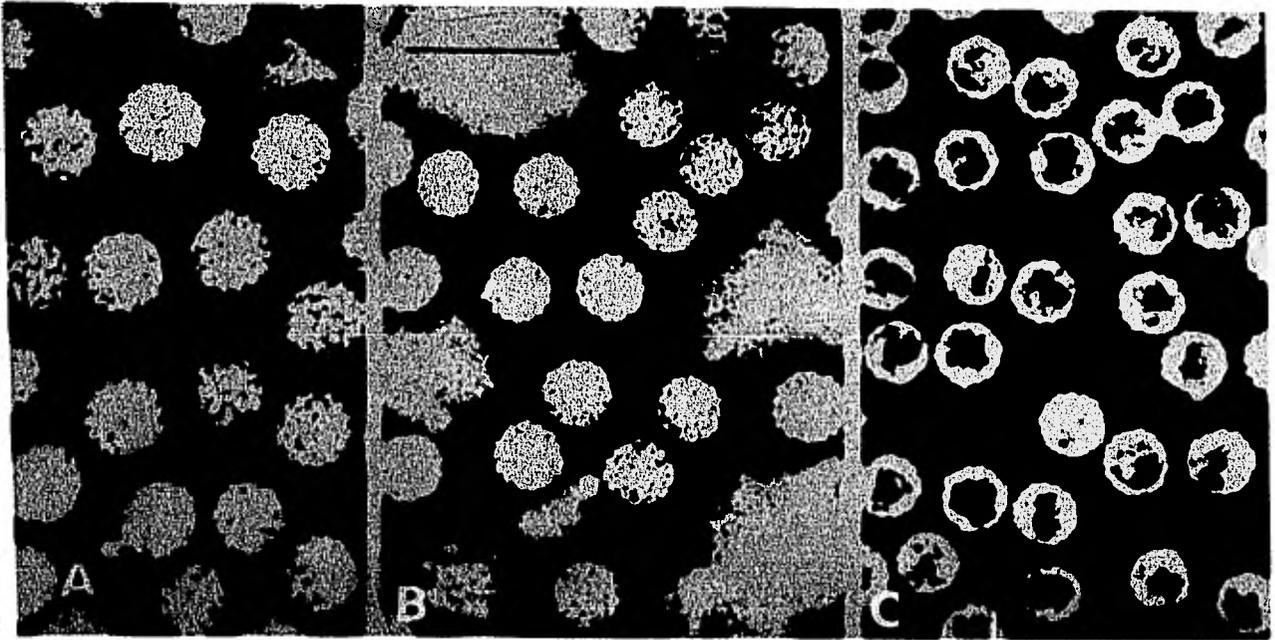
Binn L.N.et.al.: Recovery and characterization of a minute virus of canines. Infec. Immun. 1:503-508 (1970).

Carmichael L.E.: Infectious canine enteritis caused by a corona like virus : Current status and requested for information. Lab. Rep.,2(9) : 1-6, (1978).

Mann C.P. et.al. : Canine parvoviruses infection South American canids .
JAVMA. 117:9, 783-789 (1980).

Stephano H.A.: Epizootía de enteritis viral canina en México. Posible infección por parvovirus. Veterinaria vol XI, num.4, oct-dic, 140-148, (1980).

Tinsley T.W.: Parvoviruses. J.gen. Virol., 20: 7 - 15 (1973).



Papovavirus

A.- Verruga humana

B.- Polioma del ratón

C.- Polioma de vacas

PAPOVAVIRIDAE

La importancia de los papovavirus radica en que han sido empleados como un modelo valioso de virus potencialmente oncogénicos, especialmente el virus del poliooma y el SV40, los cuales han sido estudiados detalladamente. Al virus del poliooma se le llamó así porque es capaz de producir tumores múltiples de diversos tipos. Fue aislado por Stewart y Eddy en 1957, mientras intentaban aislar al virus de la leucemia de Gross en cultivos celulares, en los que observaron la aparición de neoplasias. El virus SV40 (Simian Virus) fue descubierto por Sweet y Hilleman quienes encontraron que el virus se multiplica sin causar alteraciones en cultivos de riñón de mono Rhesus, pero sin embargo, ocasiona cambios citopáticos en cultivos de riñón de mono verde africano, y cuando se inocula en hámsters recién nacidos es capaz de producir sarcomas (Dulbecco R., 1965).

Además, el interés en los papovavirus humanos se incrementó a partir de 1965 en que Zurhein y Chou describieron uno de estos virus (virus J.C.) al observar cortes de cerebro de pacientes con una enfermedad desmielinizante grave, llamada "leucoencefalopatía multifocal progresiva" (LMP), ya que hasta esa fecha solo se conocían 4 papovavirus: el virus del poliooma, el virus K, RKV y SV40, de los cuales ninguno de ellos infecta al humano en forma natural.

Actualmente se reconoce el papel etiológico de algunos papovavirus en el hombre, como por ejemplo, el virus de la LMP, virus BK y el virus del papiloma, (Gardner S.D. 1978).

CLASIFICACION. La familia Papovaviridae se divide en los siguientes géneros:

P A P O V A V I R I D A E	}	PAPILOMAVIRUS (papovavirus A)	}	Virus del papiloma del conejo Virus del papiloma (verrugas) humanas o condiloma acuminado. Virus del papiloma de otras especies mamíferas (bovinos, perros, caballos etc.)
		POLIOMAVIRUS (papovavirus B)		Virus del poliooma de ratones Virus BJ y JC del hombre Virus SV40 Virus RKV de conejos, virus K de ratones etc.



Virus del papiloma humano

A- Partículas "llenas"

B- Partículas "vacías"

CRIPTOGRAMA. D/2; 3-5/7-13; S/S; V/O, di

CARACTERISTICAS GENERALES . Todos los virus de ésta familia son partículas sin envoltura de simetría icosaédrica y con un tamaño que varía de 40 a 55 nm según el género de que se trate. Su genoma es un ADN circular bicatenario, con un PM de $3-5 \times 10^6$ d y una relación G+C de 41 a 49%; se replican en el núcleo y varios de ellos tienen capacidad hemoaglutinante.

REPLICACION. La infección de cultivos celulares por papovavirus puede dar lugar a una "infección productiva", la cual va acompañada de producción de virus y muerte celular, o bien a una "infección abortiva" con bloqueo de la producción viral y transformación celular.

Los papovavirus inician su ciclo replicativo cuando se adsorben a las células huésped y después de penetrar al citoplasma por pinocitosis, se descapsulan. En la infección productiva en células "permissivas", el genoma viral se libera y replica en el núcleo celular, reconociéndose en su transcripción las dos fases, "temprana" y "tardía", características de los virus de ADN de doble cadena.

En la primera fase se sintetiza ARNm que codifica para proteínas virales de tipo no estructural que van a servir para la síntesis de nuevo ADN. Después de que se ha formado el nuevo ADN viral, el ARNm tardío se transcribe para que se produzcan las proteínas estructurales, de las cuales se han identificado hasta el momento 6 o 7.

Las partículas virales se ensamblan en el núcleo en forma de arreglo cristalino, migrando luego hacia la membrana celular donde se depositan antes de liberarse. Por otro lado, cuando se emplean células no permissivas, se bloquea la fase tardía, de modo que la síntesis viral no se realiza completamente y como consecuencia se induce la transformación celular.

POLIOMAVIRUS

CARACTERISTICAS GENERALES. Los virus de éste género miden de 40 a 50 nm de diámetro, son icosaédricos y poseen 72 capsómeros. Es frecuente observar cápsidas vacías y también pseudoviriones formados de cápsidas conteniendo ADN celular. Su genoma de ADN bicatenario superenrollado es circular y tiene un PM aproximado de 3×10^6 d, variando la relación G+C de 41 a 48% para las diferentes especies. El ADN puede ser infeccioso o transformante.

Pese a las similitudes morfológicas de los poliomavirus, se ha observado

que entre el virus del poliooma y el SV40, sus ADN respectivos poseen una composición de bases bastante diferentes y no muestran homología en experimentos de hibridación, no así en el caso de los virus BK, JC y SV40 en los que se encuentra una homología del 20% en sus ácidos nucleicos (Gardner, 1978).

Por otro lado, se ha observado, que en el caso del virus BK, el ADN es heterogéneo, lo cual quiere decir que consiste de por lo menos 4 especies de ADN determinados por corrimiento electroforético en gel de agarosa, y solo una de éstas especies, la de mayor PM, es infecciosa (Howley P.M. 1975).

COMPOSICION QUIMICA. Los poliomavirus presentan una composición proteínica similar. El SV40 posee 6 polipéptidos cuyo PM varía de 43000 a 11000 d, de los cuales, los 3 de mayor peso son codificados por el virus y los otros parecen ser histonas de origen celular (Mullarkey M.F. 1974).

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS. El coeficiente de sedimentación en CsCl del virus completo es de 1.34 g/ml y el de las cápsidas vacías de 1.30 g/ml. Los poliomavirus son muy estables y mantienen su infectividad durante 4 meses a 4°C. Resisten el calentamiento a 60°C durante 30 min, el tratamiento con éter, fenol al 2%, etanol al 50% y el formaldehído. El virus BK puede inactivarse también con beta-propiolactona al 0.1% sin que se destruya su hemaglutinina, sin embargo si se usa al 0.25% se inhibe la capacidad para formar placas.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. En infecciones productivas y en la transformación de un cultivo celular se han detectado 3 tipos de antígenos virales: el antígeno T, con un PM de 70000, el cual se acumula en el núcleo; el antígeno U de 10000 a 20000 D encontrado en la membrana nuclear y el antígeno TSTA involucrado en el rechazo de células tumorales en trasplantes. Además recientemente se señaló la presencia de otros antígenos en células de hámster que habían sido transformadas por virus del poliooma y por SV40; estos antígenos son el S o antígeno de superficie celular y los llamados antígenos embrionarios o fetales, reconocidos ambos por pruebas de inmunofluorescencia.

El Ag T ha sido el más estudiado, se sabe que aparece varias horas antes que el antígeno de la cápsida V, sedimenta más lentamente y es menos estable además de ser específico del virus inductor y sin especificidad celular. Así mismo el antígeno V aunque es similar al antígeno T, resulta termoestable a diferencia del antígeno T que es termolábil.

Las investigaciones empleando electroinmunodifusión han demostrado que

los poliomavirus son antigénicamente distintos, no se han observado reacciones cruzadas entre los virus BK y JC con los virus K y RKV, pero sí entre los BK, JC y SV40 (Gardner S.W.1978).

HEMOAGLUTINACION. Los virus del poliooma aglutinan los eritrocitos de muchas especies, especialmente los de cobayo a 4°C y en un rango de pH entre 5.4 y 8.4; los virus K aglutinan los eritrocitos de carnero y los BK y JC a los eritrocitos humanos tipo "O", sin embargo para los virus SV40 no se ha detectado ninguna hemoaglutinina que sea capaz de aglutinar a los eritrocitos ya sea de cobayo, pato o humanos.

Por otro lado se ha observado que la neuraminidasa destruye los receptores del virus y que muchos sueros inmunes poseen inhibidores inespecíficos de la hemoaglutinación.

CARACTERISTICAS DE CULTIVO Y TRANSFORMACION CELULAR.

La infección por papovavirus puede dar lugar a una infección productiva acompañada por síntesis de partículas víricas y muerte celular, o bien a una infección abortiva con bloqueo de la producción viral y transformación celular.

Generalmente la infección de células de huésped natural dá lugar a una infección productiva (células permisivas), mientras que las células de huéspedes no naturales presentan transformación tumoral (células no permisivas). Al parecer las células no permisivas carecen de algún componente esencial para la replicación viral, o producen una o varias sustancias de tipo represor que bloquean las funciones genéticas del virus, requeridas para la producción de partículas infectantes.

Los poliomavirus causan una infección productiva con multiplicación de virus infectivos y formación de placas en diversos tipos de cultivos celulares permisivos, entre los que se encuentran las células embrionarias de ratón, cultivos primarios de riñón de ratón, de riñón de mono verde africano, células VERO, células cerebrales de feto humano, etc.

Las características del ciclo de multiplicación, varían con el estado de las células huésped, por ejemplo, en células que se encuentran en la fase activa en relación a su división o multiplicación, y que son infectadas con una alta multiplicidad, la síntesis del ADN vírico empieza entre las 10 y 12 horas, a la cual sigue rápidamente la síntesis de las cápsides y el ensamblaje de las partículas virales; mientras que en células que se encuentran en estado de reposo, la síntesis del ADN viral se retrasa y la de las cápsidas

des empieza tras una fase de latencia.

El ECP general en las células permisivas consiste en una vacuolización citoplásmica, éstas vacuolas son refráctiles y aparecen como agujeros que fijan el colorante intensamente (hematoxilina-eosina). En el caso del SV40 y BK las vacuolas se observan a los 3 o 4 días, pero en el JC la vacuolización es imperceptible por lo que la presencia del virus suele detectarse por medio del microscopio electrónico.

Los poliomavirus, al infectar células no permisivas tales como los cultivos secundarios de células embrionarias de hámsters recién nacidos (BHK), etc., dan lugar al fenómeno de transformación celular, el cual se traduce en cambios en la superficie celular, aglomeración celular, producción de antígenos específicos como el T y el antígeno TSTA, etc. Los mecanismos de transformación han sido estudiados mediante la combinación de investigaciones moleculares y bioquímicas, así como el uso de mutantes temperatura-sensibles (mutantes ts_a, ts₃, etc); los resultados obtenidos parecen indicar que el ADN vírico se integra al ADN celular, siendo en este caso los genes víricos los que regulan directamente las funciones celulares. En el caso del SV40 se sabe que la integración del genoma viral se lleva a cabo aproximadamente en 48 horas y que parece ocurrir en el momento de síntesis del ADN celular.

Es posible que la integración sea necesaria solo para estabilizar la transformación, por ejemplo por el virus del polioma o SV40, ya que algunos genes que no se integran dan lugar a la transformación temporal de células permisivas. Por consiguiente, parece ser que el genoma del virus, tanto si se halla integrado, como en libertad, dá lugar a los cambios celulares característicos de la transformación, mediante la expresión de sus genes. Estos cambios se refieren al comportamiento en los cultivos, como son el tipo de crecimiento, la orientación de las células, la topoinhibición (propiedad de las células normales de inhibir el crecimiento una vez formada la monocapa) etc., así como a ciertas características bioquímicas, por ejemplo, la actividad de glucosil transferasa, el efecto de la concentración de AMP cíclico, la producción de ácidos, etc., y también a la capacidad oncogénica al ser inoculados en animales (Butel, 1972).

Por último, cabe mencionar que la infección productiva y la transformación no siempre se excluyen mutuamente.

ONCOGENESIS. Una característica importante de los poliomavirus es su potencial para provocar tumores en ciertos huéspedes, ya sea por inoculación

de una suspensión de células transformadas , o bien por inoculación directa del virus.

El virus del polio, silvestre o de laboratorio, produce diferentes tipos de tumores en ratones recién nacidos. El virus SV40 al inyectarse en hámsters recién nacidos provoca la formación de sarcomas, así como los virus JC y BK inoculados intracerebralmente pueden originar tumores (Van der Nordan 1976; Walker, 1973).

La demostración de carcinogénesis en numerosas especies de animales sugiere que esto también puede ocurrir en el hombre.

IMPORTANCIA DE LOS POLIOMAVIRUS EN EL HOMBRE. Hasta antes de 1965, los poliomavirus conocidos solo infectaban animales, como el virus del polio de ratones y el virus SV40 de los monos; al parecer ninguno de éstos era infeccioso para el hombre de forma natural. A partir de esa fecha, en diferentes laboratorios de Inglaterra y Estados Unidos, se describieron dos nuevos virus del polio que parecían estar involucrados en algunos padecimientos humanos.

El primero de ellos, el virus JC, se encontró en la leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP), que es una enfermedad con una neuropatología característica, en la que las lesiones se extienden por todo el sistema nervioso central, y consisten en numerosos focos de desmielinización. Observaciones hechas al microscopio electrónico permitieron detectar partículas víricas en las células infectadas del SNC. Este virus se logró aislar en células cerebrales de embrión humano.

Posteriores investigaciones en pacientes con LMP permitieron observar la presencia de variantes del SV40 en las células lesionadas. En la actualidad existen abundantes pruebas de laboratorio en favor de la hipótesis de que la LMP está causada por un papovavirus oportunista que generalmente se presenta en personas con deficiencias inmunológicas.

Otro lugar en donde se ha observado infección por papovavirus además del sistema nervioso central en el humano, es el aparato urinario. En la orina de un paciente al que se le había transplantado un riñón se descubrieron células epiteliales en cuyo núcleo se detectó un papovavirus que infecta al hombre y que se conoce como el virus BK. Las pruebas serológicas demostraron que no había ninguna reactividad cruzada con el virus de las verrugas, y con el del polio, pero sí una leve relación antigénica con el SV40. A partir de este descubrimiento se han aislado, de pacientes con trasplante renal , (Lecatsas, 1973)

aproximadamente 9 cepas víricas en diferentes cultivos de células, parecidas al virus BK. (Gardner y cols., 1971).

También se han encontrado papovavirus similares al BK, en pacientes con linfoma linfocítico, leucemia mieloide crónica y en síndromes en los que hay deficiencias de la inmunidad celular y humoral (Takemoto y cols. 1974).

Los estudios serológicos demostraron que es común encontrar anticuerpos anti-BK y anti-JC entre la población general y probablemente la mayoría de las infecciones primarias ocurren en la infancia. Aún no se ha logrado relacionar estas infecciones con alguna enfermedad clínica, ni tampoco se ha tenido éxito en el intento de aislar el virus a partir de personas clínicamente sanas, pues todas las cepas aisladas hasta el presente, proceden de pacientes que como consecuencia de una enfermedad o de la naturaleza del tratamiento, son inmunológicamente anormales. Los datos de que actualmente se dispone indican que la mayoría de estas infecciones se deben a la reactivación del virus, que es capaz de persistir desde la primoinfección ocurrida en la infancia (Good, 1972).

Es evidente que el potencial oncogénico de los papovavirus humanos es muy importante, puesto que se han observado infecciones activas en pacientes inmunosuprimidos, además de un aumento en la incidencia de tumores en los pacientes con trasplante renal. Estos tumores suelen ser linfomas, generalmente limitados al cerebro y se supuso que en ello probablemente intervenían virus oncógenos (Lancet, 1971).

PAPILOMAVIRUS

Los virus de este género causan en sus huéspedes naturales, "papilomas" que son tumores naturales (verrugas), generalmente benignos, pero que pueden evolucionar a neoplasias, como en el caso del papiloma del conejo y el condiloma acuminado en el hombre.

CARACTERISTICAS GENERALES. Los papilomavirus son partículas simétricas de 50 a 55 nm de diámetro, cuya estructura icosaédrica está formada de 72 capsómeros. Se observan algunas formas filamentosas y cápsides vacías, pero son menos frecuentes que en los poliomavirus. Tienen un genoma de ADN bicatenario circular, con un PM de 5×10^6 y ocupa alrededor del 12% del peso del virus. En cuanto a la relación G+C el porcentaje de ésta varía para cada especie, siendo para el virus del papiloma del conejo 47% y para el de las verrugas humanas 41%.

Estos virus contienen 75% de proteínas, la mayoría de ellas estructurales, por ejemplo, en el virus de las verrugas humanas se han reportado 5 polipéptidos y en el virus del papiloma del conejo 6, con un PM de 14000 a 100000 d.

Respecto a sus características fisicoquímicas, poseen una densidad de - flotación en CaCl_2 de 1.34 g/ml, aunque las partículas vacías resultan menos densas. Son estables al calor y a pH entre 7 y 9, pueden mantenerse durante 20 años en soluciones con glicerol al 50% y a 4°C (J.S. Butel, 1971).

En cultivos celulares, estos virus no se propagan de modo definido, sin embargo puede darse una infección no productiva, en la que si exista una transformación celular. Los cultivos de células de piel humana pueden ser transformadas por el virus de la verruga humana, y los de piel de ternera fetal - por el virus bovino. También se pueden propagar en cultivo de riñón de mono verde o mono africano sin que se observe ECP, y sin que requieran para su replicación de virus auxiliar o "helper" (J.L. Butel, 1971).

PROPIEDADES ANTIGENICAS. La infectividad de los papilomavirus se neutraliza fácilmente con sueros hiperinmunes. No se ha descrito hasta el momento una propiedad hemaglutinante, pero se adsorben fácilmente a los eritrocitos. No presenta reactividad cruzada y existe de cada especie, un solo serotipo, a excepción de los virus de las verrugas en los que se han detectado por lo menos 3 serotipos, por fijación del complemento e inmunomicroscopía electrónica. En estos virus se ha descrito la existencia de un antígeno T, similar al de los poliomavirus.

PATOGENESIS. Los virus del papiloma del hombre, conejo y ganado inducen la formación de papilomas en la piel y el virus canino en la mucosa oral.

Las verrugas en el hombre pueden persistir durante muchos meses, ser benignas y algunas veces regresivas, desapareciendo espontáneamente, sin dejar cicatrices, pudiendo en ocasiones reaparecer nuevamente. El periodo de - incubación observado en estudios llevados a cabo en voluntarios varía entre 1 y 20 meses, con un promedio de 4 meses. Los papilomas cutáneos se presentan en forma de una proliferación del tejido conectivo dérmico (capa de Malpigi), que va seguida de una proliferación e hiperqueratinización de la epidermis.

Otros papilomas son benignos en un principio, transformándose luego en malignos, como en el caso de las verrugas genitales del hombre llamadas

condiloma acuminado.

Las lesiones que se presentan son verrugas sobre las mucosas húmedas de la vagina o sobre los órganos genitales externos del hombre, las células lesionadas contienen inclusiones intranucleares eosinofílicas en las que no se encuentran virus. Las partículas víricas solo se han observado en las inclusiones basófilas de la piel queratinizada.

El virus de las verrugas se encuentra ampliamente distribuido, pudiendo manifestarse a cualquier edad, sin distinción de sexos.

Se desconoce la fuente de infección y modo de transmisión, aunque se sugiere un mecanismo de autoinoculación o por contacto sexual en el caso del condiloma acuminado. Por otro lado, existe una marcada incidencia en pacientes que han sido sometidos a terapias inmunosupresoras.

DIAGNOSTICO. No existe una prueba de laboratorio lo suficientemente práctica para el diagnóstico de las verrugas, la mayor parte de ellas se diagnostican por su aspecto y se confirman por estudios histológicos de biopsias. En el caso del condiloma acuminado las lesiones se pueden confundir en muchas ocasiones con sífilis secundaria o carcinoma genital.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN. No se ha reportado hasta la fecha ningún método que permita evitar la aparición de verrugas. El tratamiento consiste exclusivamente en la destrucción mediante cauterización, rayos X, ácido nítrico o bien extirpación quirúrgica de estas verrugas. El condiloma acuminado se suele tratar con podofilina en tintura de benzoína.

BIBLIOGRAFIA

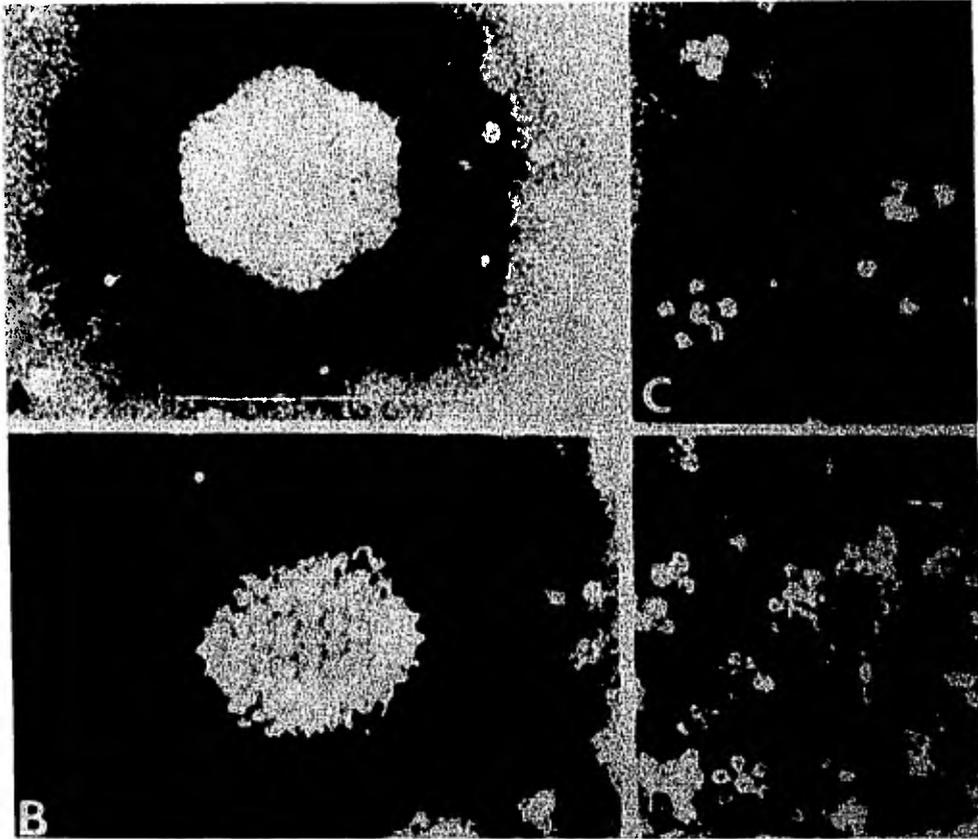
Andrews, S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of vertebrates. Fourth edition. Bailliere Tindall and Co.Ltd., 1978.

Butel, J.S. et al.: Oncogenity and cell transformation by papovavirus SV40; the role of the genome viral. Adv. Cancer Res. 15:1, (1972)

Butel, J.S.: Studies with human papilloma virus modeled after papovavirus system. J. of the Nat. Cancer Inst., 285-299, (1972)

Dulbecco, R.: Induction of cellular DNA synthesis by polioma virus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 53-403, (1965)

- Dulbecco, R. et al.: Temperature dependent properties of cells transformed by thermosensitive mutants of polyoma virus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 67:1775 (1970).
- Gardner, S.D.: Los nuevos papovavirus humanos: su naturaleza e importancia. En Virología Clínica, 100-124. Ed. Marín, S.A., 1978.
- Gardner, S.D. et al.: New human papovavirus (BK) isolated from urine after renal transplantation. Lancet 1, 1253-1257, (1971).
- Good, R.A.: Relations between immunity and malignancy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69:1026, (1972).
- Howley, P.M. et al.: Characterization of human papovavirus BK DNA. J. gen. Virol. 15 : 173-181, (1975).
- Lancet: Immunosuppression and intracerebral lymphomas (leading article). 2: 143-144, (1971).
- Lecatsas, et al.: Papovavirus in urine after renal transplantation. Nature 241, 343-344 (1973).
- Mullarkey, M.F. et al.: Comparison of two human papovaviruses with simian virus 40 by structural protein and antigenic analysis. J. of Virol. 13, 173 - 179 (1974).
- Takemoto, K.K. et al.: Isolation of papovavirus from brain tumor and urine a patient with Wiskott Aldrich Syndrome. J. of the Nat. Cancer Inst. 53, 1205-1207 (1974).
- Van Der Noordaa J. : J. gen. Virol. 30:371 (1976).
- Walker, D.L. et al.: Human papovavirus (JC): induction of brain tumours in hamsters. Science 181, 674-676 (1973).
- Zu Rhein, G.M. and Chou, S.M.: Particles resembling papovaviruses in human cerebral demyelinating disease. Science 148, 1477-1479 (1965).



Adenovirus

A - Virus mostrando las fibras o pentones

B - Arreglo icosaédrico de los capsómeros

C - Pentones libres

D - Capsómeros de viriones rotos

ADENOVIRIDAE

Los adenovirus fueron descubiertos por dos grupos de investigadores en 1953, cuando efectuaban estudios sobre los agentes etiológicos de las enfermedades respiratorias agudas. Por un lado Rowe y cols. (1953), utilizando cultivos de ganglios humanos, y por otro Hilleman y Werner (1954), cuando trabajaban con cultivos de células humanas. Ambos grupos de investigadores encontraron que se producía un efecto citopático en dichos cultivos y los agentes etiológicos recibieron el nombre de Adenovirus, por haber sido aislados de tejido adenideo.

La familia de los adenovirus se divide en dos géneros:

MASTADENOVIRUS	{	Adenovirus que infectan al hombre: 34 tipos
		Adenovirus de otras especies mamíferas
AVIADENOVIRUS	{	Virus CELO y GAL de las gallinas
		Otros adenovirus de especies aviarias

CRIPTOGRAMA. D/2; 20-29/11-14; S/S; V/O

PROPIEDADES GENERALES. Los adenovirus miden de 70 a 80 nm de diámetro, su simetría es icosaédrica y carecen de envoltura. Su nucleocápside está formada de 252 capsómeros, 240 de ellos formando las caras triangulares del icosaedro y que se denominan hexones, y los otros 12 son proyecciones dispuestas en los vértices de los triángulos llamados "fibras" o pentones. Los hexones son prismas poligonales con un orificio central y los pentones están formados por una base poligonal a la que se halla unida una fibra de longitud variable según el tipo de virus que se considere. Estas subunidades virales también pueden observarse libres.

Dentro de la nucleocápside se encuentra el núcleo central más denso o nucleoide.

Los virus contienen de 11.3 a 13.5% de ADN de doble cadena no circular, de 11 a 13 nm de longitud con un PM de 20 a 25 x 10⁶ para los adenovirus de mamíferos y de 30 x 10⁶ para los adenovirus aviarios.

Los adenovirus humanos se dividen en tres grupos: A, B y C de acuerdo con su capacidad oncogénica y con la composición de bases de su ADN, observándose una relación inversa entre el contenido de G+C y su grado de oncogenicidad, por ejemplo: los adenovirus tipo 12, 18 y 31, que pertenecen al gru

po A, son altamente oncogénicos y su relación G+C es de 49%; los tipos 3, 7, 14, 16 y 21 (grupo B) tienen un grado de oncogenicidad menor y su relación de G+C varía de 53 a 56%; finalmente los virus tipo 1, 2, 4, 5 y 6 (grupo C) que no son oncogénicos, tienen una relación G+C de 57 a 59%.

COMPOSICION QUIMICA. Las proteínas constituyen un 86 a 89% del peso del virus y los análisis en gel de poliacrilamida revelan la presencia de más de 10 polipéptidos, dos de los cuales están asociados al núcleo y en los que se establece como principal característica que tiene un alto contenido de arginina, la que se piensa desempeña un papel importante durante la maduración y ensamblaje de los virus; otros dos polipéptidos son estructurales (de la cápside) y en total 9 de ellos son proteínas glicosiladas. (Ginsberg, 1972).

CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS. Los virus maduros tienen una densidad en CsCl de 1.34 g/ml, su infectividad resiste los disolventes lipídicos y son ácido-estables, también resisten el calor y la adición de iones divalentes, sin embargo, una vez purificados se vuelven relativamente inestables. Algunas cepas son sensibles a la inactivación fotodinámica; y de las subunidades los pentones son los menos estables, por lo que pueden ser liberados espontáneamente a partir de partículas víricas purificadas, lo que da lugar a la degradación del virus (Burnett, 1975).

Por otra lado, en homogenados de células infectadas, los adenovirus pueden mantenerse durante varias semanas a 4°C, o varios meses a -25°C.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Los 33 serotipos de los adenovirus humanos pueden distinguirse por pruebas de neutralización o inhibición de la hemoaglutinación.

El antígeno principal conocido como el antígeno del hexón, se encuentra en la parte central de los capsómeros, es tipo específico y presenta reactividad cruzada con toda la familia, excepto con los adenovirus de pollos. El pentón posee también un antígeno soluble común a toda la familia, lo mismo que las "fibras" purificadas, que además tienen un antígeno secundario de subgrupo.

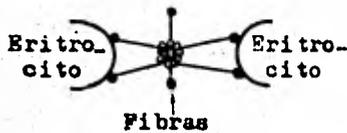
Respecto a su capacidad hemoaglutinante los adenovirus humanos se clasifican en 3 grupos (independientemente de la clasificación que se basa en su capacidad oncogénica), según aglutinen los eritrocitos de mono rhesus o ratas:

SUBGRUPO	TIPOS	HEMOAGLUTINACION	
		Rata	Mono rhesus
1	3,11,7,14,16,20,21,25,28	-	+
2	8,9,10,13,15,19,22,24,26,27,29,30	+	-
3	1,2,4,5,6	parcial	-

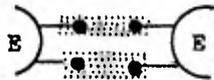
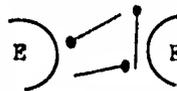
(Rosen L.1958)

La actividad hemoaglutinate se asocia con los viriones, o con los pentones o fibras en diferentes estados de agregación. La hemoaglutinación completa se presenta cuando los extremos de las fibras de los pentones se unen a los eritrocitos y dan lugar a una unión cruzada entre ellos. En cambio, las fibras purificadas y los pentones aislados provocan una hemoaglutinación incompleta, a menos que se agreguen anticuerpos heterólogos de un virus del mismo subgrupo, los cuales sirven como puentes para unir los eritrocitos. Por último, la hemoaglutinación se inhibe por acción de anticuerpos tipo específicos.

HEMOAGLUTINACION COMPLETA



FIBRAS Y PENTONAS PURIFICADAS
(NO HAY HEMOAGLUTINACION)



ANTICUERPOS HETEROLOGOS QUE AYUDAN A LA
HEMOAGLUTINACION

Además de su reactividad inmunológica, tanto los pentones como sus componentes, tienen actividad biológica específica, por ejemplo, el penton completo reacciona con las células en monocapa redondeándolas, provocando su agregación y desprendimiento del cultivo, por lo que al pentón se le conoce también como "toxina o factor de desprendimiento celular". Las fibras purificadas se pueden unir a células infectadas, bloquear su síntesis de proteínas y ácidos nucleicos y en un momento dado puede impedir o bloquear una infec--

ción celular por otro tipo de virus (Jackson O. y Muldon, 1973; R. Water Schoelisinger, 1969).

CULTIVO IN VITRO. Diversos tipos de células de mamíferos cultivados in vitro permiten la multiplicación de los adenovirus, observándose cambios citopáticos característicos entre los cuales se incluyen alteraciones patognomónicas en el núcleo. Los adenovirus se multiplican más fácilmente en células humanas de tipo epitelial (HeLa, KB) y los cultivos primarios de riñón de mono son particularmente sensibles. El desarrollo de los virus se comprueba por la observación de un ECP debido al antígeno de los pentones, que se manifiesta primero por un redondeamiento y después por la lisis de las células.

En otros tipos de cultivos se producen infecciones abortivas que pueden conducir a una transformación celular (Burnett, 1975).

La multiplicación de algunos adenovirus humanos se favorece por una infección concomitante con SV40 o SV15. En una cepa de adenovirus tipo 7 que se inoculó junto con SV40 en células de riñón de mono verde, se comprobó la incorporación de al menos una parte del genoma del SV40 en el genoma del adenovirus, con lo que éste adquirió la capacidad de producir tumores en hamsters. La partícula viral que resultó de ésta combinación es un híbrido que tiene cápside de adenovirus y en el nucleocido segmentos de genoma de adenovirus y SV40.

Debido a estas observaciones se llegó a la conclusión de recomendar el trabajar con sumo cuidado al cultivar adenovirus para la producción de vacunas, ya que existe la posibilidad de que en los cultivos de riñón de mono — esté presente el SV40.

REPLICACION. Los adenovirus se replican en el núcleo celular y la primera etapa de su ciclo, la penetración, se lleva a cabo mediante un proceso semejante a la fagocitosis. Inmediatamente después de la penetración, se liberan los pentones y el virus adopta una forma aproximadamente esférica; después la cápside se desintegra completamente liberando al nucleocido viral, que migra hacia el núcleo celular. El ácido nucleico puede penetrar libre al núcleo, o puede producirse la penetración del nucleocido completo y dentro del núcleo disociarse para dejar libre al ADN.

El proceso de replicación comprende dos fases: Temprana y Tardía. En la fase temprana, del 10 al 20% del genoma viral, que comprende por lo menos 10 a 15 genes, se transcribe a ARNm "temprano". Este ARNm codifica para la síntesis de proteínas tempranas, las cuales pueden identificarse inmunológicamente

enzimáticamente.

La transcripción tardía se inicia en el núcleo después de 6 a 8 horas - de iniciada la infección y termina completamente al cabo de 22 a 24 horas. La transcripción a ARNm "tardío", que codifica para la formación de proteínas estructurales de la cápside, se efectúa poco después de iniciada la replicación del ADN, la cual es bidireccional, de modo que comienza en el centro de la cadena y sigue hacia los lados (Perre Bourgeaux, 1976). Ahora bien, aunque la síntesis del ADN y el ARNm vírico se lleva a cabo en el núcleo, las - proteínas se sintetizan a nivel de los polirribosomas en el citoplasma, y después de liberadas son transportadas al núcleo, para que se inicie el ensamblaje de las partículas maduras. Una vez ensambladas, las partículas víricas - maduras se liberan por ruptura de la membrana nuclear.

Por otro lado, hay evidencia de que el ADN vírico puede integrarse a - las células y transformarlas. Por ejemplo, cuando se infectan células de ciertas especies animales con adenovirus tipos 12 o 18, no se produce lisis, pero las células se transforman y cuando se inyectan en animales de la especie que provienen, les producen tumores. En este caso solo se sintetizan moléculas - de ARNm y proteínas "tempranas" (Philipson L., 1973).

Las células tumorales y transformadas contienen una proteína que no forma parte del virus y que recibe el nombre de "antígeno tumoral" (T).

En las células que presentan una infección productiva, con adenovirus - oncógenos, se sintetiza un antígeno que es inmunológicamente parecido al antígeno T; su síntesis se produce durante la primera fase del ciclo de replicación y antes del ADN vírico y de las proteínas de la cápside, por lo que - se considera al antígeno tumoral, una proteína temprana.

A pesar de los numerosos intentos no se han detectado adenovirus, ni su ADN, su ARNm o su antígeno tumoral T en los tumores humanos. Parece ser que los adenovirus a pesar de su gran capacidad oncogénica en los animales, no - producen tumores en el hombre.

Es probable que la infección en el hombre sea productiva (lisis de las células), mientras que las células de los animales resisten a la infección y ponen de manifiesto el potencial oncogénico de estos virus. (Lucas, 1971).

PATOGENESIS. Los adenovirus se transmiten por vía aérea y a través de - secreciones nasofaríngeas, causan enfermedades que se localizan principalmente en el aparato respiratorio y en los ojos. En algunos cuadros diarréicos - se han encontrado adenovirus 1,2,5 y 6 pero su relación etiológica con la

enfermedad no se ha demostrado.

El periodo de incubación es de 5 a 10 días, y según la vía de entrada el virus puede multiplicarse inicialmente en la faringe, las conjuntivas o el intestino delgado. No se observa viremia durante la infección, de modo que el virus no se disemina a órganos distantes y por lo general las infecciones suelen ser leves, con curación espontánea y sin dejar secuelas.

Los adenovirus 3,47,14 y 21 producen síndromes respiratorios agudos. La fiebre faringoconjuntival y la conjuntivitis folicular las producen los tipos 1,2,3,5,7, y 14, mientras que la conjuntivitis febril aguda se debe comúnmente a los tipos 1,2 y 5, y la queratoconjuntivitis al tipo 8.

Todos los procesos van precedidos de síntomas de un resfriado común y a veces de una linfadenopatía submaxilar indolora que en ocasiones se complica dando lugar a bronquitis, laringitis y neumonía, sobre todo en el síndrome respiratorio agudo (Ward, T. 1973).

En los pocos casos mortales, las lesiones patológicas observadas en las autopsias, muestran una necrosis masiva del epitelio bronquial y edema, además de inclusiones basófilas intranucleares en el epitelio de bronquios y alveolos.

INMUNIDAD. Con la infección por adenovirus, se adquiere una inmunidad tipo específica duradera. Aproximadamente una semana después de la infección aparecen los anticuerpos neutralizantes y los anticuerpos fijadores del complemento. De éstos, los primeros persisten de 8 a 10 años y los fijadores — del complemento decrecen a los 6 o 12 meses. Resulta particularmente importante la aparición de una respuesta local de tipo IgA, y en general parecen seguir el mismo curso que los anticuerpos tipo IgG.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico de laboratorio de las infecciones causadas por adenovirus, se hace por medio de pruebas serológicas como fijación del complemento, neutralización e inhibición de la hemaglutinación. La prueba de fijación del complemento es la más sencilla pero resulta menos sensible que la inhibición de la hemaglutinación o neutralización.

Aunque no es habitual, el diagnóstico también se puede hacer por aislamiento del virus a partir de secreciones oculares y nasofaríngeas, inoculándolas en líneas celulares tipo HeLa o KB, o en células de riñón de embrión humano, detectándose la presencia del virus, por el efecto citopático que se observa entre el 2o. y 14o. día, el cual consiste en un redondeamiento y —

y aglutinación de las células.

EPIDEMIOLOGIA. El hombre es el único huésped natural conocido de los adenovirus humanos. La transmisión es por vía aérea o por difusión de las secreciones nasofaríngeas y oculares de persona a persona. Frecuentemente se encuentra el virus en las heces, lo que sugiere que ésta podría ser otra fuente de contaminación, al igual que el polvo o el lodo de las fábricas.

Los síntomas respiratorios se presentan con mayor frecuencia en invierno y las conjuntivitis en verano, por lo que se ha sugerido, en éste último caso, que la infección puede adquirirse a través del agua contaminada de las albercas (Ginsberg H., 1972).

A pesar de su amplia distribución, la importancia clínica de los adenovirus se reduce a epidemias de enfermedades respiratorias agudas en focos limitados de poblaciones de reclutas y en ocasiones entre la población infan - til.

Por otro lado, se cree que los virus pueden permanecer latentes después de la infección, en las amígdalas y adenoides, y aunque gran número de adultos presentan anticuerpos contra uno o más tipos de adenovirus, los estudios epidemiológicos demuestran que los adenovirus provocan solo del 4 al 5% de - los procesos respiratorios de origen viral (Jackson y Muldon, 1973).

PREVENCIÓN Y CONTROL. Existen vacunas útiles para prevenir la infección por adenovirus, sin embargo, su uso solo está indicado en poblaciones de re - clutas ya que entre la población civil, es muy baja la frecuencia de enferme - dad.

Por otro lado, las vacunas no se encuentran al alcance del público por varias razones, entre las que destaca el hecho de que los adenovirus son di - fíciles de conservar sin que pierdan parte de su capacidad antigénica.

Entre la población militar, se emplean generalmente vacunas de virus i - nactivados con formalina o de cepas atenuadas de los tipos 3,4,5,6 y 7, pero a raíz de que se han detectado virus SV40 en éstas vacunas, y puesto que no son muy eficaces, se ha desarrollado una vacuna de virus vivos tipos 4,7 y 21 que se administra oralmente en forma de cápsulas con envoltura entérica, de - mostrándose su efectividad ya que provocan una buena respuesta de anticuerpos tipo Igm, IgG e IgA secretoria (Pearay L.Ogra, 1980).

BIBLIOGRAFIA

Andr wes S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth edition. Baillieri Tindall and Co.Ltd.,1978.

Bourgauz,P.L. et.al.: Initiation of adenovirus type 2 DNA replication. *Virology* 72: 89 (1976).

Burnett,J.P. et.al.: Retention of tumor inducing capacity by adenovirus DNA after cleavage by restriction endonucleases. *Nature* 254: 158,(1975).

Ginsberg,H.S.: Adenoviruses. *Amer.J.Clin. Path.* 57:771, (1972).

Jackson and Muldon: Virus causing common respiratory infections in man. *Journal of Infec.Dis.* 131(13), 308-342, (1973).

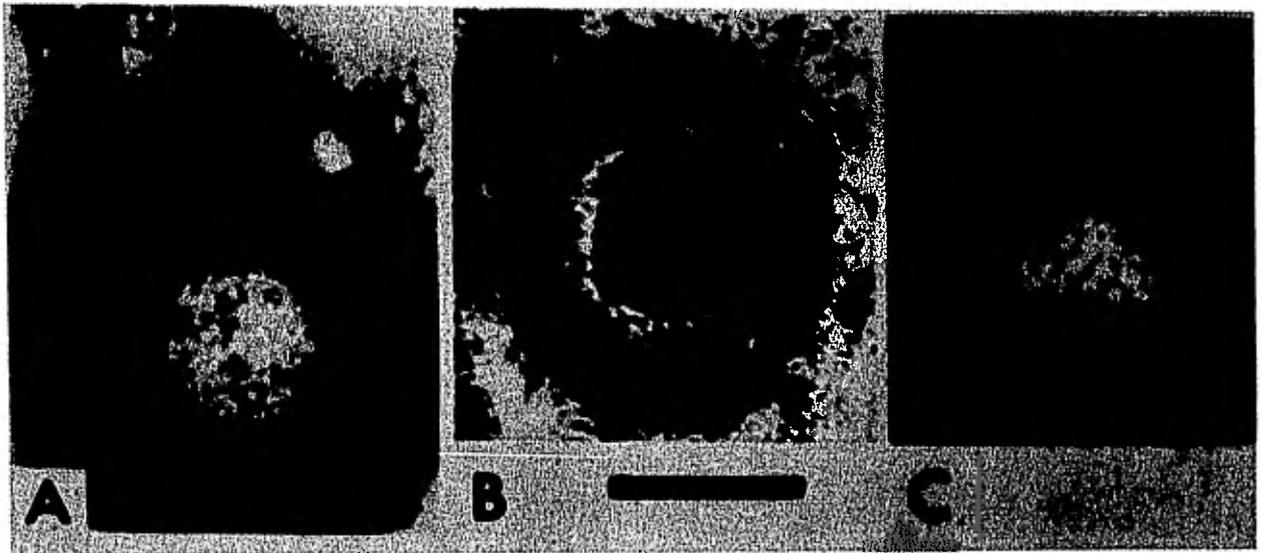
Lucas,J.J. and Ginsberg,H.S.: Synthesis of virus-specific ribonucleic acid in KB cells infected with type 2 adenovirus. *J.Virol.* 8:203, (1971).

Philipson,L. and Pettersson,U.: Structure and formation of virion proteins of adenoviruses. *Prog.Exp. Tumor.Res.* 18:1 , (1973).

Schilinger,R.W.: Adenoviruses: the nature of the virion and of controlling and tumorigenesis. *Adv. Virus Res.* 14:1, (1969).

Ogra, P.L. et.al.: Viral vaccination via the mucosal routes. *Reviews of Inf. Diseases.* 2(3) 351-405, (1980).

Ward,T.G.: Viruses of the respiratory tract. *Prog. Med. Virol.* 15:126,(1973).



Virus del Herpes simplex

- A- Partícula teñida negativamente mostrando la envoltura
- B- Partícula mostrando la cápside
- C- Partícula sin envoltura mostrando los capsómeros

HERPETOVIRIDAE

Dentro de los herpesvirus (del griego Herpein-serpentear) se encuentran, entre otros, los virus del herpes simple y varicela-zoster, que son dos de las enfermedades más frecuentes del hombre y cuyas características epidemiológicas habían desorientado durante mucho tiempo a los investigadores. Fue hasta 1950, cuando se demostró que el agente etiológico era el mismo para la varicela que para el zoster, explicándose así la recurrencia de dicha enfermedad.

Además de estos virus, durante la década de 1960 y 1970, se han identificado otros virus que debido a sus características químicas, físicas y biológicas han sido clasificados dentro de la misma familia, la cual se encuentra dividida actualmente en los siguientes géneros (Melnick, 1980):

H E R P E T O V I R I D A E	{	ALFAHERPESVIRUS	{	Virus del herpes simple humano tipos 1 y 2 Virus de la Varicela-Zóster Virus B del herpes de los monos Alfaherpesvirus de vacas, cerdos, caballos y gatos.
		BETAHERPESVIRUS (grupo de los citomegalovirus)	{	Citomegalovirus humanos Citomegalovirus de otros mamíferos
		GAMAHERPESVIRUS (grupo de los virus linfoproliferativos)	{	Virus Epstein-Barr Gama herpesvirus de monos, aves y conejos

CRIPTOGRAMA. D/2; 60-120/7; S/S; V/O

CARACTERÍSTICAS DE LA FAMILIA. La mayoría de los miembros de esta familia tienden a causar infecciones latentes y a producir lesiones citopáticas focales, es decir, vesículas o pústulas, tanto en los pacientes como en la membrana de huevos embrionados que han sido infectados por estos virus.

Todos los virus tienen una morfología semejante: miden de 180 a 200 nm de diámetro y están formados de tres partes: el core que contiene al ácido nucleico; la cápside que rodea al core, presenta simetría icosaédrica y está formada de 162 capsómeros; y por la cubierta o envoltura, constituida en forma de una bicapa, apareciendo la capa interna como una zona granulosa rica en glicoproteínas y la capa externa, que se considera derivada de la capa in

terna, es rica en lípidos, observándose en ella pequeños peplómeros dispuestos regularmente. Además, en preparaciones de cualquiera de los diferentes tipos de herpesvirus pueden detectarse frecuentemente con el microscopio electrónico, partículas sin envoltura, o bien cápsides vacías (Hicks M.L., 1979).

Su genoma es un ADN bicatenario lineal, con un PM de 60 a 120 x 10⁶ d y una relación G+C de 33 a 74%. Respecto al ADN algunos estudios de hibridación indican que existe una homología del 20 al 70% en la secuencia de bases del genoma de los virus del herpes simple tipos 1 y 2, correspondiéndose también un 14% de las bases con los herpesvirus bovinos y de un 5 a 8% con los virus de la pseudorrabia (herpesvirus de perros).

COMPOSICION QUIMICA. Los herpesvirus tienen un coeficiente de sedimentación de 1.2 a 1.3 g/ml. Son sensibles a disolventes orgánicos como éter, alcohol absoluto, fenol, formaldehído, etc., también a permanganato de potasio, detergentes catiónicos, iodo, iones metálicos, rayos X, gamma, luz UV y ultrasonido. Son relativamente termolábiles, dependiendo de la presencia de iones Ca y Mg, de la concentración del virus y de la concentración de sales como NaCl. Son estables a un pH entre 5.5 y 9.5 y en general se pueden conservar adicionando proteínas al medio de suspensión, por ejemplo, suero de caballo y conejo al 10%, gelatina al 0.5% etc. La adición de Na₂SO₄ permite también estabilizar al virus (R.Williams 1978).

REPLICACION. Dentro de la replicación de los herpesvirus, la cubierta viral tiene un papel importante ya que facilita la fijación de los virus a los sitios receptores específicos de la célula huésped. La penetración de virus puede llevarse a cabo de dos formas: ya sea por fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática de la célula, de modo que la nucleocápside penetra directamente, o bien, por fagocitosis por medio de la cual penetra la partícula completa, siendo ésta última forma la que más se ha observado. Las enzimas celulares degradan la envoltura dejando así libre a la cápside, la que posteriormente migra al núcleo celular.

En el núcleo, el genoma viral se libera y se replica.

Después de una fase de eclipse de 5 a 6 horas empieza la síntesis de nuevas partículas víricas, dividiéndose dicha síntesis en tres fases: 1) síntesis de proteínas estructurales y no estructurales, la cual tiene lugar en el citoplasma de la célula; 2) síntesis de ADN viral; y 3) ensamblaje de la nucleocápside, tanto la fase 2 como la 3 se efectúan en el núcleo celular.

El proceso de replicación es similar al descrito para otros virus con -

ADN, en el que ocurren una transcripción asimétrica a ARN, síntesis de enzimas necesarias para la replicación (ADN polimerasas, timidincinasas etc.) — así como la síntesis de proteínas estructurales y no estructurales.

Las proteínas que forman la nucleocápside después de sintetizadas, migran al núcleo para ahí ensamblarse, pero el mecanismo exacto de como lo hacen no se conoce. Existe una teoría que establece que es en el núcleo en donde se encuentran ciertos "factores de agregación" y que son estos factores los que permiten el ensamblaje de las proteínas estructurales.

Después de formadas las nucleocápsides, estas migran del núcleo hacia el citoplasma, y por un proceso de gemación adquieren la primera envoltura. Después estas partículas parecen ser recubiertas por unas vesículas originadas quizá a partir del retículo endoplásmico y de las cuales adquieren la segunda capa de envoltura. Una vez formados los virus, se liberan de las células por un proceso parecido a una "fagocitosis inversa" o gemación (Hicks, 1979).

Un dato curioso de la infección por herpesvirus, es su ineficacia desde el punto de vista de la producción de virus, ya que solo aproximadamente un 25% del ADN vírico y de las proteínas sintetizadas pasan a formar parte de nuevas partículas virales maduras.

VIRUS DEL HERPES SIMPLE (VHS)

INTRODUCCION. El virus del herpes simple se aisló en 1919, cuando se demostró que un virus procedente de una lesión labial y de una queratitis, era capaz de causar lesiones características cuando se inoculaba en la córnea de conejo. A partir de entonces el virus se ha aislado de múltiples infecciones tanto primarias como recurrentes ocasionadas por herpesvirus.

La recurrencia es una característica de las lesiones por herpes simple, es decir, cuando el enfermo sana, la infección se transforma en latente u oculta, pero puede reactivarse más tarde, a consecuencia de estados febriles, quemaduras solares y diversos factores que alteran la fisiología del huésped.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Existen dos tipos bien definidos de VHS, el tipo 1, que normalmente es el responsable de infecciones orales, y el tipo 2 relacionado con lesiones genitales. Estos dos serotipos del VHS pueden distinguirse por su patogénesis, así como por su desarrollo en huevos embrionados, por su ECP en cultivos celulares, el contenido de G+C y por pruebas serológicas.

Los dos tipos del VHS comparten determinantes antigénicos de superficie presentando un alto grado de reactividad cruzada (Molung H., 1976).

Además se han observado variantes antigénicas de cada tipo, gracias a lo cual es posible distinguir las diferentes cepas.

HUESPEDES Y CULTIVO. El huésped natural del VHS es el hombre, sin embargo, son sensibles también algunos animales de laboratorio como conejos, ratones, cobayos, hámsters, etc.

El virus se multiplica con facilidad en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados después de 40 a 48 horas de incubación a 36°C, detectándose por la aparición de vesículas. Se ha podido multiplicar también en diferentes tipos de cultivos celulares, entre los que se encuentran células de riñón de hámster, riñón de conejo y de embrión humano, sin embargo no se pueden cultivar fácilmente en células de riñón de mono.

PATOGENESIS. La característica más importante del virus del herpes simple es su tendencia a persistir en estado latente en el hombre y activarse a intervalos regulares.

El virus se disemina a partir de una persona que presente síntomas de una enfermedad recurrente, la transmisión es por contacto directo a través de fomites, siendo frecuente que los focos primarios de infección se encuentren en los núcleos familiares o institucionales (cárceles, escuelas, hospitales, etc.).

La infección inicial se manifiesta a través de una erosión de las mucosas, por ejemplo, en el ojo, boca, faringe, genitales o en la piel y es aquí en donde tiene lugar la multiplicación viral.

Desde este punto, el virus puede diseminarse por vía sanguínea o nerviosa y existen evidencias que relacionan a las infecciones en las que no se afecta el sistema nervioso con una diseminación por torrente sanguíneo, mientras que la encefalitis y algunos casos de herpes ocular se presentan como una consecuencia de invasión por sistema nervioso. (Craig C.B., 1973).

CUADRO CLINICO. Las lesiones herpéticas primarias pueden ser ocultas, benignas o graves, cursando casi el 100% de los casos como infecciones subclínicas. El periodo de incubación puede ser aproximadamente de una semana.

En los pacientes con cuadros leves o agudos suele presentarse fiebre y malestar general, así como la aparición de vesículas en un solo foco o en varios, sobre piel o mucosas.

En la gran mayoría de los casos, la primoinfección se manifiesta en ---

niños de 6 a 18 meses y las encuestas realizadas han demostrado que ésta infección casi siempre es leve. Sin embargo en el 10 a 15% de los niños se presenta una variedad clínica conocida como gingivostomatitis herpética, que se caracteriza por fiebre, dolor de garganta y boca, y la aparición de placas blancas y vesículas edematosas sobre la mucosa de la boca, lengua y orofaringe que son sumamente dolorosas.

En la vulvovaginitis herpética aparecen en los genitales lesiones similares a la gingivostomatitis.

La queratoconjuntivitis herpética se caracteriza por edema e inflamación de la conjuntiva y córnea, puede presentarse sola o bien, acompañada de lesiones herpéticas en los párpados o en otras regiones.

El herpes simple traumático se caracteriza por la aparición, alrededor de una abrasión o quemadura de la piel, de grandes vesículas y pústulas.

Entre las complicaciones más graves y raras de las infecciones por VHS, se encuentran el eczema herpético caracterizado por una erupción pustular generalizada, la meningoencefalitis herpética y el herpes neonatal, que puede adquirirse al nacer o bien por infección transplacentaria (L.H.Chillien, 1975). Por otro lado Carranza y cols. han señalado la posibilidad de que algunos estados depresivos patológicos pudieran estar relacionados con infecciones cerebrales asintomáticas por herpes simple (Carranza, 1976).

Aunque las infecciones herpéticas primarias suelen ir acompañadas de la producción de anticuerpos específicos, el virus no se erradica del huésped, sino que persiste en él, permaneciendo en forma latente. Durante este periodo de latencia, el virus puede localizarse dentro de los ganglios raquídeos o ganglios trigéminos del hombre, ya que en ellos se han detectado virus en un alto porcentaje, aún cuando no exista una infección herpética manifiesta. Hasta el momento no se conoce el mecanismo exacto de la reactivación, la idea general es que ciertos factores externos alteran las condiciones de las células huésped, permitiendo la multiplicación del virus.

En algunos individuos los ataques recurrentes siguen a una exposición a la luz solar o al calor, después de un ataque febril, un traumatismo, agotamiento físico, menstruación, trastornos emocionales o en el embarazo.

Las lesiones del herpes simple recurrente son generalmente benignas, pero muy dolorosas y tienden a presentarse repetidamente; en la mayoría de los casos las lesiones de reactivación tienen la forma de un herpes labial también conocido como ampollas o fuegos.

El herpes generalizado recurrente y la meningoencefalitis recurrente son raros y pueden presentarse después de un eczema herpético o de una encefalitis herpética primaria (Lennette, 1978).

INMUNIDAD. La respuesta inmune después de una infección aparente u oculta, se caracteriza por la aparición de anticuerpos neutralizantes, principalmente de dos clases, los anticuerpos dirigidos contra al antígeno de la nucleocápside y anticuerpos contra algunas glicoproteínas (H.J.Zweerink, 1981).

La presencia de anticuerpos séricos podría explicar la atenuación del cuadro clínico y la falta de viremia durante el herpes recurrente, pero puesto que puede haber reactivación de un virus latente en presencia de títulos altos de anticuerpos circulantes parece ser que la inmunidad humoral no juega un papel importante, ya que aunque impide la diseminación del virus, no inhibe la aparición de las lesiones locales.

También se ha sugerido que las lesiones herpéticas recurrentes, no son causadas por fluctuaciones temporales en los niveles de anticuerpos, y que la presencia o ausencia de anticuerpos específicos no están relacionadas con una mayor susceptibilidad a tener infecciones recurrentes (H.J.Zweerink 1981). Por otro lado los anticuerpos maternos confieren protección al niño, al menos durante los primeros 6 meses de vida, contra el tipo 1 en forma más frecuente que contra el tipo 2.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. La confirmación de las infecciones primarias por herpes simple suele hacerse por el diagnóstico clínico que se basa en la aparición de las características lesiones de la piel, siendo necesario en los casos graves un estudio de laboratorio que permita confirmar el diagnóstico clínico y facilite el diagnóstico diferencial.

Entre las pruebas de laboratorio con que se cuenta actualmente, la más rápida, sencilla y económica, consiste en la observación de células gigantes multinucleadas, con cuerpos de inclusión eosinófilos intranucleares en muestra obtenidas de las lesiones herpéticas.

Mediante la inmunofluorescencia es posible detectar el antígeno específico en las células lesionadas, así como a los anticuerpos específicos podemos detectarlos por inmunodifusión doble, empleándose con buenos resultados en estudios seroepidemiológicos y pudiendo compararse esta última técnica con las pruebas de neutralización y fijación del complemento (J.M.Echevarría y cols., 1980).

Mediante las técnicas de neutralización o fijación del complemento, es

posible detectar el aumento de anticuerpos, entre dos muestras de suero tomadas, una durante la fase aguda, y la otra de 14 a 21 días después del inicio de la enfermedad; esta prueba es útil solo en las infecciones primarias, ya que el suero de pacientes en fase de recurrencia posee desde el principio un elevado título de anticuerpos y no muestra aumentos significativos.

El aislamiento del virus a partir de muestras (líquido de las vesículas) tomadas en los primeros días de la enfermedad, se logra inoculándolas en cultivos de células de riñón de hámster, conejo o embrión humano, en las que se detecta la presencia del virus por el ECP, que puede presentarse como redondeamiento y aglutinación de las células, o bien por la aparición de células gigantes multinucleadas, o células en cuyos núcleos se observan cuerpos de inclusión refringentes. Actualmente, en raras ocasiones se utilizan huevos embrionados y animales de laboratorio para el aislamiento de estos virus.

EPIDEMIOLOGIA. El mecanismo habitual de transmisión para herpes simple tipo 1 es el contacto directo de persona a persona o a través de fomites; y por contacto sexual puede adquirirse el tipo 2.

Las encuestas seroepidemiológicas indican que existen anticuerpos neutralizantes contra el VHS tipo 1 en un 70 a 90% de los adultos, por lo que es probable que este virus sea el que se encuentra más difundido en la naturaleza. La infección primaria por VHS tipo 1 ocurre en niños menores de 5 años y la frecuencia de infección es alta en los grupos socioeconómicos bajos, en los que las condiciones de vida y la sanidad son precarias. Además el herpes simple puede dar lugar a epidemias menores dentro de grupos familiares o instituciones. Por otro lado, el VHS tipo 2 es raro encontrarlo antes de la adolescencia y la frecuencia de infecciones es menor que la de tipo 1.

TRATAMIENTO Y CONTROL. Para el control de las infecciones por herpes simple se ha intentado la elaboración de vacunas pero sin éxito, y hasta la fecha no se cuenta con una vacuna adecuada.

En cuanto al tratamiento, las infecciones por VHS de tipo 1 fueron las primeras enfermedades virales que pudieron tratarse con quimioterapia. La mayor parte de las queratitis herpéticas primarias, y en algunas ocasiones encefalitis, han sido tratadas con éxito con Iododesoxiuridina (IUdR) de aplicación local al principio de la infección, aunque pueden presentarse casos de recurrencia y aparición de mutantes resistentes después del tratamiento, además, la IUdR es muy tóxica administrada por vía parenteral, y solo es —

útil contra el VHS tipo 1 .

También se ha empleado con éxito un arabinosido de citosina (1-D ara - binofuronasiladenina, Ara C) y arabinosido de adenina (ara A), sobre todo en casos de aparición de mutantes resistentes a la IUdR y cuando se presentan reacciones tóxicas; se han determinado dosis de Ara A que no son tóxicas y se pueden emplear como tratamiento para recién nacidos que presentan herpes (L.T.Choien, 1975). Sin embargo todos estos agentes, la IUdR, AraC y Ara A debido a su alta toxicidad, solo se administran cuando la enfermedad es se - vera y está en peligro la vida.

VIRUS DE LA VARICELA ZOSTER

El virus de la Varicela-Zoster (V-Z), forma parte del grupo de los herpesvirus, posee propiedades diferentes de las que presentan los virus del herpes simple, pero comparten con estos, ciertos determinantes antigénicos.

Este virus ocasiona en el hombre dos enfermedades clínicamente distintas: la varicela, que es una enfermedad contagiosa que afecta principalmente a niños en forma leve y generalmente no deja secuelas o cicatrices; y la llamada zoster o zona que también es contagiosa, y se presenta por lo general solo en adultos en forma esporádica como consecuencia de una reactivación del virus que persiste en forma latente, después de una primoinfección.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Los virus que causan la varicela y el zoster, son indistinguibles por cualquier prueba serológica como resultado de la existencia de un solo serotipo.

Las pruebas de difusión y precipitación en gel revelan la existencia de 3 antígenos solubles diferentes, existiendo evidencias de que los virus V-Z forman un grupo antigénicamente homogéneo. Se han encontrado ligeras reacciones cruzadas con el virus del herpes simple y hasta el momento no se ha reportado actividad hemoaglutinante en ellos.

TIPO DE HUESPED Y CULTIVO. El único huésped natural es el hombre. El virus V-Z es incapaz de multiplicarse y propagarse en alguno de los animales comunmente empleados en el laboratorio, así como tampoco se multiplican en huevos embrionados, pero sí puede replicarse en cultivos en monocapa primarios o secundarios, de células humanas, de mono o de conejo (fibroblastos o epiteliales) y crecen también en la línea celular HeLa.

PATOGENESIS . Tanto la varicela como el herpes zoster, son causadas

por el mismo virus. La varicela es la enfermedad aguda que aparece después del contacto primario con el virus, mientras que el zoster es la forma recurrente de la enfermedad, observada en adultos que han sido previamente infectados con virus V-Z.

Los virus V-Z se transmiten a través de las secreciones respiratorias, por lo tanto, penetran al organismo por la vías respiratorias, donde se multiplican localmente e infectan también los ganglios linfáticos regionales. Pueden dar lugar a una viremia y diseminarse por vía sanguínea a la piel y - órganos internos, presentando el virus un tropismo por los tejidos ectodérmicos.

Después de un periodo de incubación de 13 a 17 días y generalmente coincidiendo con la aparición del exantema, puede presentarse un cuadro febril y malestar general.

El exantema maculopapular se manifiesta primero en el tronco, y posteriormente en las extremidades, va acompañado de prurito que en unas pocas horas se transforma en vesículas enrojecidas, las cuales en poco tiempo se colapsan en su parte central, formando así una pústula que finalmente se cubre de una costra, desprendiéndose en pocos días sin dejar cicatriz. Las lesiones pueden aparecer en brotes sucesivos y se pueden observar de modo simultáneo en todos los estadios. Al evolucionar las vesículas, aparece degeneración de las capas espinosas de la piel, seguida de formación de células gigantes multinucleadas o de cuerpos de inclusión eosinofílicos intranucleares. Aunque - la varicela suele ser benigna durante la infancia, puede resultar grave y a veces mortal en el adulto, los recién nacidos y en individuos con tratamiento inmunosupresor. En estos casos, la erupción puede volverse hemorrágica o bien sobrevenir una encefalitis (T.H.Weller, 1973).

Herpes Zoster. Esta enfermedad afecta solo a individuos que poseen antecedentes de haber padecido la varicela y se debe a la reactivación, por diversos factores, del virus V-Z, que hasta ese momento permanece en el organismo en estado latente; dichos factores pueden ser: traumatismos, exposición prolongada al calor, tensiones, estados de stress, administración de fármacos inmunosupresores o bien enfermedades como leucemia, tuberculosis y tumores malignos.

En el zoster se presenta una reacción inflamatoria aguda de los ganglios sensitivos o de los nervios espinales o craneales; la enfermedad se inicia - en forma aguda, con dolor en la zona inervada por el nervio o ganglio afecta

do, y aparición en la misma "zona" de lesiones vesiculares que resultan anatómicamente idénticas a las de la varicela. Esta erupción vesicular persiste de 2 a 4 semanas, pero el dolor puede perdurar durante varios meses.

La patogenia del zoster no es bien conocida pero se sabe que los ganglios afectados quedan infiltrados por células mononucleares y presentan zonas hemorrágicas diseminadas. En cuanto a complicaciones, si la inflamación se extiende a la médula espinal, puede producirse una parálisis y también, aunque en un porcentaje menor, una meningoencefalitis.

INMUNIDAD . Los anticuerpos neutralizantes para los virus V-Z, en la varicela, se detectan en el suero a los 4 - 5 días después de la aparición del exantema, y aumentan durante las dos semanas siguientes, confiriendo así una inmunidad de por vida contra una nueva infección primaria, sin embargo, estos anticuerpos neutralizantes no protegen contra la reactivación del virus latente.

En el suero de pacientes que sufrían una infección por virus V-Z, pudieron identificarse dos subclases de IgG, llamadas IgG "lenta" e IgG "rápida" que difieren en cuanto a su actividad neutralizante, en las dos manifestaciones clínicas de la infección. En las infecciones de tipo varicela, la actividad neutralizante corresponde a la fracción lenta de la IgG, y en el zoster, los anticuerpos neutralizantes corresponden a la fracción rápida.

La IgG "lenta" que se produce después de un ataque de varicela no evita la aparición del zoster, sin embargo, después de una segunda exposición al virus V-Z, en forma de zoster, se adquieren suficientes anticuerpos neutralizantes, que explican el hecho de que no se presente un segundo ataque de zoster.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico clínico de la varicela y del zoster es muy característico y solo en ocasiones se requiere hacer un diagnóstico de laboratorio específico para determinar la etiología de la enfermedad. El método comúnmente empleado en esas ocasiones, es el examen microscópico directo de la muestra (líquido de las vesículas) teñida con Giemsa, y por medio del cual se observan las células gigantes y los cuerpos de inclusión característicos de la varicela.

A diferencia del VHS, el virus V-Z no se multiplica en embriones de pollo o animales de laboratorio. Puede recurrirse a pruebas serológicas como fijación del complemento o difusión en gel de agar para demostrar la presencia de antígenos específicos en el líquido de las vesículas, o inocular la

muestra en cultivos celulares, en los cuales el ECP aparece a partir del 2o. al 7o. día y consiste en lesiones focales que se van incrementado gradualmente en todo el cultivo.

EPIDEMIOLOGIA. La varicela es una de las enfermedades con más alto índice de morbilidad, debido quizá a la fácil transmisión del virus por medio de las secreciones respiratorias.

Las epidemias afectan principalmente a niños pequeños, en especial en invierno, en cambio el zoster es poco frecuente y los individuos afectados son por lo general mayores de 20 años y no se ha descrito ninguna relación estacional. Por otra parte, una persona con zoster resulta una fuente potencial de varicela y puede dar lugar a una epidemia, si tienen contacto con niños sensibles. (Weller T.H., 1978).

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN. Hasta el momento no existe ningún método para la prevención y control de la varicela, ni tampoco una vacuna de uso comercial.

Si no se presentan complicaciones, la varicela y el zoster curan espontáneamente, el tratamiento es sintomático y consiste en la aplicación de ungüentos con calamina para calmar el prurito. El dolor en el zoster puede atenuarse con analgésicos o productos que contengan codeína. Debido a las complicaciones en el adulto, se investiga el posible uso de Ara A, Ara C, puesto que se ha visto que la 5IUdR en este caso no es efectiva como cabría esperar por su utilidad contra el VHS. (Brunell, P.A., 1973).

CITOMEGALOVIRUS

Los citomegalovirus también pertenecen a la familia Herpetoviridae, son llamados así, por el gran tamaño de las inclusiones basófilas características que producen en el núcleo y citoplasma de las células de las glándulas salivales y de las vísceras infectadas, éstas células además se encuentran dilatadas, de ahí que a la infección también se le conoce como enfermedad de las inclusiones citomegálicas.

Los citomegalovirus aunque comparten algunas propiedades con los herpes virus, como su contenido de ADN, simetría icosaédrica, presencia de cubierta, etc., difieren en otras como por ejemplo, crecen muy lentamente en cultivo de células, son especie-específicos, es decir, tienen un rango muy pequeño de huéspedes, y permanecen estrictamente asociados a las células, por lo

que no sería extraño que en un futuro fueran clasificados en un nuevo grupo.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Las cepas de los citomegalovirus se pueden diferenciar por pruebas de neutralización, por medio de la cual se han distinguido, al menos, dos tipos antigénicos, o por inmunofluorescencia, la cual ha permitido identificar 5 subgrupos antigénicamente diferentes. Las cepas diferenciadas por neutralización se han llamado; Kerr, Davis, Ad 169, C-87, L-38E y BC-13 etc., y es probable que todas ellas compartan un determinante antigénico que induzca la formación de anticuerpos fijadores del complemento. Además los citomegalovirus presentan cierta reactividad cruzada entre sí, con los virus del herpes simple tipo 1 y con los virus V-Z, pero en general, debido a la escasa capacidad inmunogénica, su estructura y características antigénicas no han sido bien estudiadas.

CARACTERISTICAS DE CULTIVO. Aunque los citomegalovirus afectan con la misma frecuencia a animales como al hombre, hasta la fecha no se ha encontrado ningún animal de laboratorio que resulte sensible a la infección por CMV humano, sin embargo, se han podido propagar sin dificultad en cultivos celulares de fibroblastos humanos, células epiteliales, musculares y pulmonares de tejidos embrionarios, en los cuales el ECP se presenta en forma de focos de células refráctiles en los que se observa redondeamiento celular y la aparición en el núcleo de grandes inclusiones granulares que se tiñen con hama toxilina-eosina, siendo además muy lenta la aparición de dichos focos.

Los CMV por otra parte, afectan la síntesis del DNA y la actividad meiótica, cuando se inoculan en fibroblastos de riñón de hámster, incrementando dicha actividad y la velocidad de replicación del DNA (T. Albrecht et.al.1976).

La infección por CMV es muy frecuente, ya que están ampliamente difundidos y predomina especialmente en adultos jóvenes. Las manifestaciones clínicas de las infecciones por CMV varían según la edad, y suelen ser asintomáticas, sin embargo, la infección congénita, que se adquiere por vía placentaria cuando la madre presenta una infección latente, puede ser grave y a menudo mortal, afectándose generalmente el cerebro, glándulas salivales, riñones, hígado y pulmones, y en caso de sobrevivir, pueden quedar lesiones cerebrales irreparables, como oligofrenia (Stern H.,1978).

La infección en los adultos es poco frecuente, pueden presentarse casos graves por la reactivación de una forma latente, adquirida durante el periodo neonatal o la infancia, por acción de una terapia inmunosupresora, rayos X,

transplante renal, transfusiones masivas de sangre, etc. (R.F. Pass, 1980).

Los CMV pueden transmitirse por vía placentaria, convirtiéndose con frecuencia, los niños afectados en fuente de infección para los adultos. En este caso la patogénesis depende de la naturaleza de la infección en la madre; la forma neonatal se presenta en los hijos de mujeres que sufren viremia en el embarazo, en las que el virus atraviesa la placenta y se disemina a las glándulas salivales, cerebro y vísceras abdominales, eliminándose por la orina al nacer. Si la infección es generalizada, se producirá el aborto o un nacimiento prematuro con lesiones cerebrales, si por otra parte, la infección intrauterina es localizada y benigna, el niño puede no presentar signos de infección hasta la infancia o incluso en la edad adulta siendo posible que la infección no se manifieste clínicamente (R.P. Bryce 1980).

Las infecciones generalizadas en el adulto, como ya se mencionó, son resultado de reactivaciones del virus por diversos factores, que pueden afectar la médula ósea, el tejido linfoide o el sistema reticuloendotelial y también se han asociado a otras enfermedades entre las que se encuentran neoplasias generalizadas, leucemias, malformaciones cardíacas congénitas, diabetes, hipogammaglobulinemia, anemia hemolítica, púrpura trombocitopénica, enfermedad de Hodgkin, etc. (D. Lang, 1980).

Las lesiones anatomopatológicas se caracterizan por necrosis, las células se encuentran muy aumentadas de tamaño, los núcleos hipertróficos conteniendo cuerpos de inclusión eosinófilos brillantes de más de 15µm de diámetro.

El citoplasma puede presentar un aspecto vacuolado y contener más de 20 pequeñas estructuras basófilas.

INMUNIDAD.— Estudios seroepidemiológicos realizados en diversas partes del mundo, han demostrado la presencia de anticuerpos fijadores de complemento contra los CMV en la mayoría de la población, lo cual indica que existen muchas infecciones subclínicas (G. Muchnik 1978).

Los anticuerpos se han encontrado en el suero de niños infectados en el periodo prenatal y en presencia del virus, por lo tanto, se supone que los virus transmitidos de la madre al hijo no producen una tolerancia inmunológica.

EPIDEMIOLOGIA. Los CMV se encuentran distribuidos en todo el mundo. Como lo indican las encuestas seroepidemiológicas en que en el 80% de los adultos se demostró, la presencia de Acs fijadores del complemento (D. Lang 1980), a pesar de los pocos casos descritos que cursan como una enfermedad clínica.

Se ha encontrado que la infección es más común en las clases socioeconómicas bajas, siendo los niños los más frecuentemente infectados y sin que aparentemente los cambios estacionales ejerzan influencia alguna en la infección.

Los mecanismos más frecuentes de transmisión del virus son el transplacentario y las transfusiones sanguíneas, aunque es posible que exista una transmisión entre individuos a través de secreciones respiratorias, de la orina y por contacto sexual (D.Lang 1980).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico de las infecciones por CMV se puede realizar por citología exfoliativa, métodos inmunológicos y por aislamiento del virus. El método menos costoso y más confiable es la identificación de las células citomegálicas características con inclusiones intranucleares e intracitoplásmicas, en el sedimento urinario, en lavados gástricos y bronquiales.

Entre los métodos inmunológicos, que permiten la detección de anticuerpos contra los CMV en el suero de los pacientes, se encuentran la inmunofluorescencia, fijación del complemento, neutralización, ELISA y ELFA (B. Forghani 1980; I, Sarovi 1980).

El aislamiento del virus es el método más empleado para detectar la infección en el recién nacido y se realiza en cultivos de fibroblastos embrionarios humanos, detectándose por el CPE la presencia del virus.

TRATAMIENTO Y CONTROL. No existe en la actualidad quimioterapia con agentes antivirales para las infecciones por CMV; se ha empleado en algunas ocasiones como medida profiláctica el interferón humano, sin lograr resultados satisfactorios (Lang 1980).

Actualmente, debido al alto índice de morbilidad y mortalidad entre los recién nacidos y sus graves secuelas, se justifica que se estén haciendo investigaciones a fondo para la elaboración de una vacuna que proteja a las mujeres en edad fértil y los resultados preliminares indican que la inoculación de una cepa vacunal derivada de la cepa Ad-169, en voluntarios estimula la producción de anticuerpos neutralizantes y fijadores del complemento que permanecen en circulación por lo menos 3 años.

Sin embargo todavía quedan cuestiones muy importantes por resolver, las cuales se refieren fundamentalmente a los riesgos que involucra su a

plicación y que se pueden resumir en cuatro aspectos: En primer lugar se encuentra el problema de que los métodos de atenuación para un citomegalovirus no son lo suficientemente confiables para tener la seguridad de que el virus ha perdido virulencia y no vaya a causar una enfermedad olínica.

Así mismo, existe la posibilidad de que siendo el citomegalovirus un herpesvirus, pueda permanecer en forma latente y bajo ciertas condiciones reactivarse provocando una infección manifiesta en las mujeres vacunadas y aún transmitirse al feto, ocasionando un daño igual al que se presenta en una infección natural; además otro problema es la heterogeneidad antigénica que presentan las cepas de CMV humanos, motivo por el cual no se tiene la certeza de que un prototipo de virus vacunal confiera protección contra algún CMV silvestre.

Pero quizá el mayor problema que se plantea para la elaboración de una vacuna anti-CMV es la sospecha de oncogenicidad que se atribuye a todos los herpesvirus, particularmente contra el CMV existe la certeza de que ciertas cepas atenuadas han provocado la aparición de metaplasias en algunos cultivos de células, por ejemplo, en fibroblastos de hámster. Se tiene evidencia de que cualquier método de inactivación provoca una expresión incompleta de los genes y aumenta la probabilidad de transformación neoplásica.

Una vacuna de fracciones antigénicas elaborada con los determinantes antigénicos de superficie del virus, sería probablemente la solución ideal, pero la eficacia y duración de la inmunidad conferida, y las posibilidades económicas de su producción, están por demostrarse.

Por otra parte, se ha propuesto, como una alternativa de la vacuna, el que se realice un diagnóstico precoz de la infección primaria en mujeres embarazadas, recomendándose que en caso de un resultado positivo, se interrumpa el embarazo, de manera similar a como se procede con el virus de la rubéola.

Evidentemente todavía existen muchos problemas por resolver antes que una vacuna anti-CMV pueda comercializarse, pero ya no cabe la menor duda sobre la necesidad de prevenir la infección (H. Stern 1978; D. Lang 1980).

VIRUS EPSTEIN BARR

Estos virus fueron descubiertos por Epstein y Barr en 1965, mientras se estudiaba la etiología del linfoma de Burkitt; ellos observaron en las células del linfoma, cultivadas en serie, la presencia de partículas víricas del tipo herpes, a las que denominaron como virus Epstein-Barr (EB).

Posteriormente se observó que los leucocitos procedentes de pacientes - con mononucleosis infecciosa, podían cultivarse "in vitro" en forma continua y que en cierto número de células cultivadas se encontraba el virus EB.

Además también se encontró el virus EB en las secreciones faríngeas de pacientes con dicha enfermedad, por lo que 1968, G.Henle y W.Henle, llegaron a la conclusión, de que el virus EB era la causa de la mononucleosis infecciosa y posiblemente estaba relacionado con otras enfermedades como el linfoma de Burkitt, el carcinoma nasofaríngeo y quizá la enfermedad de Hodgkin.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. El virus EB es morfológicamente similar a los virus del herpes, sin embargo, no presentan ninguna relación inmunológica. Se ha demostrado en el virus EB la presencia de múltiples determinantes antigénicos específicos por pruebas de fijación de complemento, inmunofluorescencia e inmunodifusión, entre los que se encuentran : el Ag nuclear fijador - del complemento, llamado EBNA, el antígeno temprano EA, detectado en el citoplasma, en presencia de inhibidores de la síntesis de ADN, el antígeno MA, antígeno de la membrana formado en la superficie de la célula y el VCA o antígeno estructural de la cápside.

Durante un cuadro de mononucleosis infecciosa, los pacientes desarrollan anticuerpos heterófilos, que son capaces de aglutinar eritrocitos de carnero y que pueden ser adsorbidos en eritrocitos de bovinos, detectándose en ellos la presencia de una hemolisina.

HUESPEDES Y CULTIVO. El virus se ha detectado en líneas celulares derivadas de pacientes con linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, o mononucleosis infecciosa, además es posible cultivarlo en fibroblastos embrionarios y en leucocitos humanos. El virus parece tener una afinidad específica por las células linfoblastoides, en las cuales puede encontrarse en estado vegetativo o lisosómica, observándose que solo el 1% de las células en un cultivo contienen nueva progenie viral y que esta proporción se puede aumentar por tratamiento con pirimidinas halogenadas. También se han encontrado en algunas células la presencia de antígenos virales, en ausencia de partículas víricas.

PATOGENESIS. Una de las enfermedades asociadas a los virus EB, mononucleosis infecciosa, que es una enfermedad aguda que afecta principalmente el tejido linfoide. Los datos clínicos sugieren que el virus penetra por vía

aérea en el organismo a través de las secreciones respiratorias, multiplicándose en el tejido linfático local. Su diseminación es por vía sanguínea, posteriormente penetra en los leucocitos en los cuales también se multiplican.

El periodo de incubación varía de 3 días a 2 ó 6 semanas, los síntomas iniciales son; malestar, fiebre, dolor de garganta, cefalea y faringitis. El proceso en sí, se caracteriza por la aparición de ganglios linfáticos hiperplásicos y dolorosos al tacto, esplenomegalia y la presencia de linfocitos anormales en el torrente sanguíneo; en el suero se detectan títulos elevados de anticuerpos heterófilos que reaccionan con eritrocitos de carnero además de la aparición de anticuerpos contra las determinantes antigénicas de la cápside del virus EB. En algunas ocasiones puede presentarse ictericia o signos de meningitis, hematuria, proteinuria, púrpura trombocitopénica y anemia hemolítica.

La enfermedad suele manifestarse por una a dos semanas siendo en algunas ocasiones, los periodos de convalecencia muy largos, y las recaídas o la muerte, casos muy raros.

Además de la mononucleosis infecciosa, el virus EB se ha asociado con ciertos tumores humanos como son el linfoma de Burkitt y el carcinoma nasofaríngeo, que suelen aparecer en circunstancias poco habituales, en los que el individuo presenta una inmunodepresión. El linfoma de Burkitt se inicia en la región del borde alveolar del maxilar superior o inferior, crece rápidamente y altera la forma de la cara, pudiendo invadir los párpados y la órbita ocular. Provoca metástasis en hígado, riñones, ovarios y otras vísceras.

Las evidencias con que se cuenta a favor de la etiología viral de estas enfermedades son:

- 1) La mononucleosis infecciosa solo se presenta en personas que carecen de anticuerpos contra el virus EB.
- 2) Todos los individuos con antecedentes de mononucleosis infecciosa, poseen anticuerpos contra la cápside del virus.
- 3) Se han encontrado virus en la nasofaringe de personas durante la fase aguda de la enfermedad, además de que se encuentra en los leucocitos de la sangre periférica.

En cuanto al linfoma de Burkitt:

1) Se ha identificado el virus en los leucocitos de los pacientes con dicho linfoma.

2) El virus EB puede transformar los fibroblastos humanos fetales encontrándose en las células el genoma viral.

3) Los pacientes presentan títulos altos de anticuerpos contra los antígenos MA, EA y VCA, y por último,

4) Se ha encontrado en las células tumorales el antígeno EBNA.

En el carcinoma nasofaríngeo también se han encontrado títulos altos de anticuerpos contra el virus EB y DNA viral en las células tumorales (Kufel D. 1973; Jencas, 1972).

Por otro lado, se cree que el linfoma de Burkitt aparece bajo ciertos factores genéticos y que el carcinoma nasofaríngeo tiene como antecedente un cuadro de paludismo, sin estar esto claramente demostrado. (Morrowe et al. 1976).

INMUNIDAD. Como resultado de la infección por virus EB, aparecen anticuerpos circulantes contra el antígeno de la cápside, los cuales persisten durante muchos años en el suero del paciente, sin embargo, los anticuerpos heterófilos que aglutinan los eritrocitos de carnero, desaparecen rápidamente. Las encuestas seroepidemiológicas indican que el 85% de la población adulta posee anticuerpos contra el virus EB, lo cual indica que frecuentemente ocasiona infecciones ocultas.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico de la mononucleosis infecciosa se basa en el examen de muestras sanguíneas colectadas durante la fase aguda de la enfermedad. Es posible también aislar el virus a partir de muestras nasofaríngeas. En el examen sanguíneo lo que se busca es: 1) una linfocitosis caracterizada por la presencia de linfocitos circulantes atípicos de gran tamaño, con citoplasma espumoso y muy basófilo, llegando en ocasiones a presentarse en un 50% de los linfocitos circulantes; el número de leucocitos aumenta en la 2a. semana hasta $80,000 \text{ mm}^3$, 2) los anticuerpos heterófilos, es decir aglutininas para los eritrocitos de carnero, se presentan en un 50 a 90% de los pacientes que cursan la enfermedad (este método se conoce como prueba de Paul-Bunnell).

También se pueden emplear técnicas de fijación del complemento, difusión en gel, inmunofluorescencia, etc. para detectar los anticuerpos formados en contra de los distintos antígenos virales.

EPIDEMIOLOGIA. La mononucleosis infecciosa afecta principalmente a adultos jóvenes; la evidencia máxima se da entre los 15 y 20 años. La enfermedad no es muy contagiosa y se presenta en forma esporádica. La transmisión se debe principalmente al contacto directo, sobre todo a través de la saliva por medio del beso (Sawfer, 1971).

Algunos estudios han permitido establecer que es posible contraer la enfermedad de manera indirecta a través de fomites contaminados o después de transfusiones sanguíneas.

En cuanto al linfoma de Burkitt se sabe que la frecuencia con que se presenta en niños africanos es de 1 en 50,000.

TRATAMIENTO Y CONTROL. No existe en el comercio ninguna vacuna contra la mononucleosis infecciosa; la enfermedad suele ser benigna y no se conoce ningún tratamiento eficaz. Puede emplearse ácido acetilsalicílico para reducir las molestias del cuadro febril y la faringitis, recomendándose reposo en cama, ya que debido a la esplenomegalia, pueden presentarse complicaciones durante la fase aguda de la enfermedad.

El linfoma de Burkitt se puede tratar exitosamente con agentes alquilantes, como la ciclofosfamida o el Vincristín y si la remisión con estos fármacos dura más de un año, el pronóstico de la enfermedad suele ser benigno (Green M., 1972).

BIBLIOGRAFIA

Andrews S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Baillieri Tindall and Co.Ltd., 1978.

Albrecht T. et.al.: Induction of cellular DNA synthesis and increased mitosis activity in Syrian hamster embryo cells abortively infected with human cytomegalovirus. J.gen.Virol. 30: 167-177, (1976).

Bía F.J. et.al.: Vaccination for the prevention of maternal and fetal infection with Guinea Pig cytomegalovirus. J. Inf.Dis. 142(5), 732-738, (1980).

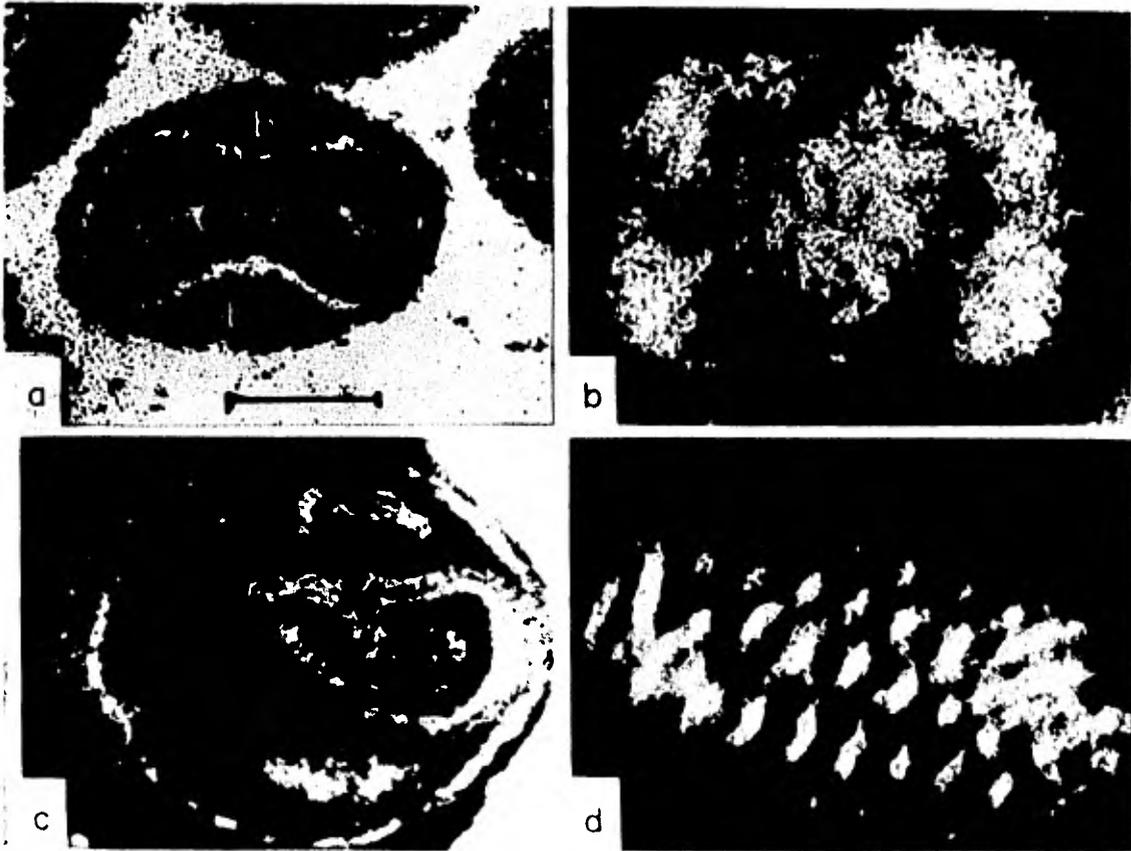
Brunell, P.A. et.al.: Passive immunization against Varicella-Zoster infections and other modes of therapy. J.Inf.Dis. 127:415, (1973).

Bryce Larke R.P. et.al.: Congenital cytomegalovirus infection in a urban Canadian community. J. of Inf.Dis. 142(5); 647-652, (1980).

- Carranza Acevedo José y cols.: Depresión psíquica e infecciones por virus — del herpes simple. Archivos de Investigación Médica IMSS,7(1),17-22,(1976).
- Craig C.P. and Nahmias A.J.: Different patterns of neurologic involvement with Herpes simplex virus types 1 and 2: Isolation of Herpes simplex types 1 and 2 from the buffy coat two adults with meningitis. J. Infect. Dis.127:365,(1973).
- Chlien L.T. et.al.: Antiviral chemotherapy and neonatal herpes simplex virus infection: a pilot study—experience with adenine arabinoside (Ara A). Pediatrics 55(5) : 678-684, (1975).
- Echeverría J.M. y cols.: La inmunodifusión doble en estudios de seroepidemiología de los virus herpes simples. Bol. de la of. Sanit.Panamericana, 88(2) 127-135, (1980).
- Forghani, B. and Schmidt N.: Humoral immune response to virions and dense bodies of human cytomegalovirus determined by enzyme immunofluorescence assay. J. of Med.Virol. 6:119-127, (1980).
- Green, M.: Molecular basis for the attack on cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69:1036, (1972).
- Hammer S.M. et.al. : Temporal cluster of herpes simplex encephalitis: investigation by restriction endonuclease cleavage of viral DNA. J. of Infect. Dis. 141(4), 436-440, (1980).
- Hicks M.L. et.al.: Herpesvirus hominis type 1: a summary of structure, composition, growth cycle and cytopathogenic effects. Oral Medicine 48(4) 311-318 (1979).
- Jonas, J.: Clinical significance of the EB herpesvirus infection in man. Prog. Med. Virol. 14:200, (1972).
- Kufe, D. et.al.: Burkitt's tumors contain particles encapsulating DNA-instructed DNA polymerase and high molecular weight virus-directed RNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70:737, (1973).
- Lang, D.J.: Cytomegalovirus immunization: status, prospects, and problems. Reviews of Inf. Dis. 2(3), 449-458, (1980).
- McLung, H., Seth P., and Rawls W.E.: Quantitation of antibodies to herpes simplex virus types 1 and 2 by complement-dependent antibody lysis of infected cells. American J. of Epidem. 104(2), 181-191, (1976).

- Molung, H. et al.: Relative concentrations in human sera antibodies to cross-reacting and specific antigens of herpes simplex virus types 1 and 2. *Am. J. of Epidem.* 104(2), 192-201, 1976).
- Muchnik, G. et al.: Prevalencia de anticuerpos para rubeola, citomegalovirus y toxoplasma en poblaciones infantiles de la cd. de Buenos Aires. *Revista -- del Hospital de niños* vol. XX-78, 4-10, (1978).
- Pass R.F. et al.: Cytomegalovirus infection in patients with renal transplant: potentiation by antithymocyte globulin and an incompatible graft. *J. of Inf. Dis.* 142(1) 9-16, (1980).
- Sarovi I. et al.: Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for determination of IgG antibodies to human cytomegalovirus. *Acta path. Microb. Scand. Sect. B* 88, 1-9, (1980).
- Short communications: Further characterization of herpes simplex virus persistence. *J. gen. Virol.* 43, 467-472, (1979).
- Smith, C.C. and Aurelian L.: Proteins of herpesvirus type 2. Isolation and immunologic characterization of two viral proteins in a virus-specific antigenic fraction. *Virology* 98, 255-260, (1979).
- Starr, Stuart E.: Cytomegalovirus. In *Diagnostic procedures for Viral and -- Rickettsial Infections*. pp 701-715. (E.H. Lennette and N.J. Schmidt, eds.) American Public Health Association, New York, 1978.
- Stern H.: La vacuna anticitomegalovírica: su justificación y problemas anejos. En *Virología Clínica*, pp. 125-144. Ed Marín, 1978.
- Sawyer, R.N. et al.: Prospective studies of a groups of a Yale university -- freshmen. I. Occurrence of infectious mononucleosis. *J. Infect. Dis.* 123:263, (1971).
- Rawls William E.: Herpesviruses. In *Diagnostic procedures for Viral and -- Rickettsial Infections*. pp. 642-671. (E.H. Lennette and N.J. Schmidt, eds.) American Public Health Association, New York, 1978.
- Weller, Thomas H. M.D.: Varicella-Zoster virus. In *Diagnostic procedures for Viral and Rickettsial Infections*, pp. 733-750. (E.H. Lennette and N.J. Schmidt, eds.) American Public Health Association, New York, 1978.
- Zweerink H.J. and Stanton L.: Immune response to herpes simplex virus infections: virus-specific antibodies in sera from patients with recurrent facial infections. *Infection and Immunity* 31(2), 624-630, 1981.

POXVIRUS



a y c.- Virus Vaccinia mostrando los cuerpos laterales
y el nucleoide bicóncavo

b.- Aspecto exterior del virus vaccinia

d.- Virus Orf

POXVIRIDAE.

CLASIFICACION. El grupo al cual pertenecen el virus de la viruela, incluye a los virus más grandes y de mayor complejidad estructural entre todos - los que afectan al hombre. Se clasifican como virus complejos porque sus - nucleocápsides no se ajustan a una simetría helicoidal, ni a una icosaédrica.

Actualmente la familia Poxviridae se ha clasificado en los siguientes géneros:

P O X V I R I D A E	CHORDOPOXVIRIDAE (Poxvirus de vertebrados)	ORTOPOXVIRUS	{ Virus de la vaccinia Virus de la viruela o small-pox. Cowpox, Viruela de los monos Viruela de los conejos y virus de la Ectromelia de ratones.
		PARAPOXVIRUS	{ Virus ORF Virus de los nódulos de los ordeñadores y otros virus de ungulados.
		AVIPOXVIRUS	{ Virus de la viruela de gallinas y aves.
		CAPRIPOXVIRUS	{ Virus de la viruela de ovejas
		LEPORIPOXVIRUS	{ Mixoma de liebres Fibroma de conejos y ardillas
		SUIPOXVIRUS	{ Viruela de los cerdos
		ENTOMOPOXVIRIDAE : Probablemente tres géneros: A, B y C. (Poxvirus de invertebrados)	

CRIPTOGRAMA: D/2; 130-200/5-7; X/X; V/O Di

Ya que la gran mayoría de estos virus no infectan al hombre, señalaremos exclusivamente las características esenciales de los géneros que si lo infectan y entre los cuales tenemos a los ortopoxvirus y ciertos parapoxvirus.

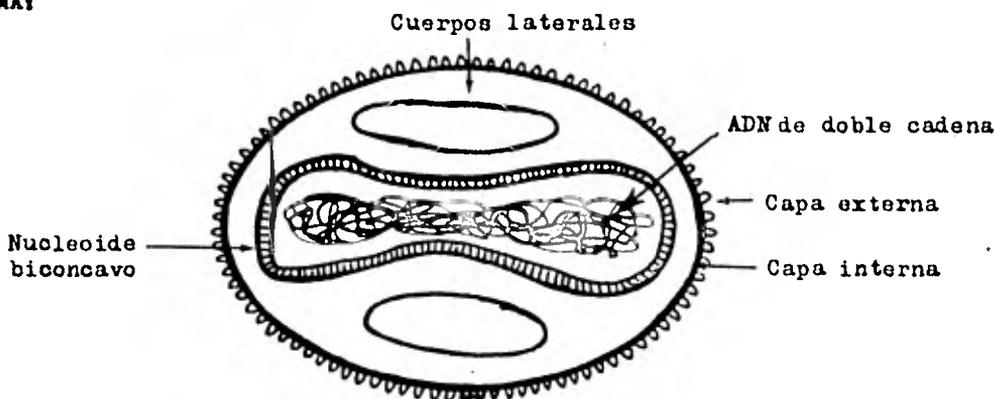
Los ortopoxvirus incluyen los virus de la viruela, de la vaccinia, cowpox, etc. Dentro de los virus de la viruela, se encuentra el virus de la vi-

ruela mayor, que es una enfermedad febril contagiosa caracterizada por lesiones vesiculares y pustulares, y el alastrim o viruela menor, que es una variedad de la viruela, que no se distingue de los casos leves de viruela mayor y es producida por una variedad atenuada estable del virus de la viruela, cuyo origen se desconoce y que resulta también indistinguible desde el punto de vista antigénico.

El virus de la vaccinia corresponde a los virus que se obtienen de material fresco de las pústulas del ganado. Actualmente, las cepas de virus que se emplean en la inmunización contra la viruela, se llaman virus de vacuna y provienen de las cepas de vaccinia en las cuales se ha modificado levemente su estructura antigénica a través de pases sucesivos del virus en terneros.

CARACTERÍSTICAS GENERALES. Estos virus presentan forma ovoide, rectangular o de ladrillo, miden 218-300 x 150-200 x 100 nm. Poseen una envoltura externa de 10 a 15 nm, formada de filamentos tubulares constituidos de lipoproteínas y una capa interna lisa, de antígenos proteínicos solubles, con un espesor de 5 nm. Ambas capas se encuentran rodeando al nucleocido o parte central densa, que es en forma de disco bicóncavo, y a los "cuerpos laterales" de naturaleza proteica. El nucleocido contiene al genoma viral, que es un ADN bicatenario, de un PM de 130 a 200 x 10⁶ d, que constituye alrededor del 3 al 7% del peso total del virus y contiene de un 26 a 40% de G+C.

ESQUEMA:



COMPOSICION QUIMICA. El contenido proteico en esta familia es aproximadamente de un 90%; se han reconocido por lo menos 30 polipéptidos con un PM de 8000 a 200,000 d. Tres de ellos son relativamente abundantes, 4 están si

tuados en la superficie del virus y dos están asociados con el ADN; varios de los polipéptidos son glicosilados, además se ha encontrado un 2.2% de fosfolípidos y un 1.4% de colesterol. Los virus contienen dentro de sus cores varios tipos de enzimas, como por ejemplo, ADN asaa, ADN polimerasas, proteínasas y fosfatasa.

CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS. Los poxvirus tienen una densidad de flotación en CsCl de 1.24 g/ml, son resistentes al calor, éter y desoxicolato, también resisten soluciones de fenol al 1% a 4°C pero no a 37°C. Se inactivan con radiaciones UV, rayos X, gamma y alfa, agentes oxidantes (hipocloritos o permanganatos), formaldehído al 2%, alcoholes, acetona y pH ácidos. En suspensiones líquidas se destruyen por calentamiento a 60°C durante 10 min, pero en seco resisten 10 min a 100°C.

Pueden almacenarse durante muchos meses a temperatura ambiente o a -20°C en soluciones que contengan glicerol, son estables también a -75°C.

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Los ortopoxvirus, que incluyen los virus de la viruela, vaccinia, cowpox, etc., están relacionados serológicamente, comparten propiedades antigénicas y solo difieren unos de otros por uno o dos de sus determinantes antigénicos, que en total son aproximadamente 20. Estos antígenos se han agrupado en dos tipos principales que son: 1) el antígeno central nucleoproteico (NP) asociado a la porción central del virus y que es común para todos los poxvirus y 2) el antígeno soluble (LS), llamado así porque tiene un componente lábil al calor (L) y un componente estable (S).

Estos antígenos son los responsables de las reacciones de precipitación aglutinación y fijación del complemento, pero no de las de hemoaglutinación.

El antígeno soluble es una mezcla de componentes que se ponen de manifiesto en pruebas de precipitación en gel de agar, y por lo menos se han observado 8 líneas de precipitación cuando se analizan preparaciones purificadas del antígeno, y hasta 17 líneas cuando se emplean como muestras extractos de tejidos infectados. Así mismo, se ha sugerido que no todos los componentes del antígeno soluble son proteínas estructurales, y que algunos de ellos pueden ser sustancias específicas, como por ejemplo, enzimas.

HEMOAGLUTINACION. Los ortopoxvirus son capaces de aglutinar los eritrocitos de pavo y pollo. La hemoaglutinina de estos virus es una partícula relativamente grande de 65m μ , que se inactiva con lecitinasas y se puede demostrar en las membranas de las células infectadas con virus de vaccinia o vi-

ruela, mediante hemoadsorción. Está presente también en los virus que se liberan espontáneamente del cultivo celular, pero no en preparaciones de virus purificados, en los cuales se ha observado que no son capaces de aglutinar a los eritrocitos.

REPLICACION. El ciclo de replicación de los poxvirus comienza cuando éstos se unen a los receptores de las células huésped y son incorporados al citoplasma por un proceso semejante al de la fagocitosis.

Después de la penetración, el ADN vírico se libera gracias a un doble proceso de desoapsulación: inmediatamente después de la penetración se inicia la primera etapa del ciclo por acción de enzimas preexistentes en la célula huésped (es decir, no inducidas por la infección) produciéndose así la desintegración de los fosfolípidos víricos y parte de algunas de las proteínas de la envoltura, liberándose finalmente la estructura nucleoproteica interna. La segunda etapa o fase, comienza después de un periodo de latencia de aproximadamente 30 a 60 min y da lugar al rompimiento de la nucleocápside, lo que permite la liberación del ADN viral. Antes de la replicación del ADN, se sintetiza ARNm por medio de una ARN polimerasa presente en el núcleo, que transcribe parte del genoma al terminar la primera fase de desoapsulación.

El ADN vírico liberado, que es bicatenario, se replica por duplicación semiconservativa, sirviendo de molde tanto para la síntesis de nuevo ADN viral, como para la síntesis de proteínas estructurales y enzimas que intervienen en la duplicación.

La biosíntesis de los polipéptidos de los poxvirus y su ensamblaje se realizan por completo en el citoplasma de la célula. En una etapa inicial se forman partículas inmaduras, las cuales van sufriendo una diferenciación, dando lugar así a la formación de la membrana interna, los cuerpos laterales y el nucleocido que contiene al ADN, hasta que finalmente la cubierta externa del virus adquiere su aspecto maduro y las partículas se acumulan en el citoplasma. La liberación de las nuevas partículas virales puede ocurrir por gemación, pero la mayoría pasan de célula a célula por puentes intercitoplásmicos.

PATOGENESIS. Los virus de la viruela penetran por las vías respiratorias superiores, donde inician su multiplicación, primero en la mucosa y luego en los ganglios linfáticos regionales. Durante el periodo de incubación, que es de 11 a 12 días, no existe posibilidad de contagio; cuando se inicia

la fiebre, se presenta una viremia primaria que persiste durante los 2 a 3 primeros días de la fase prodrómica. El virus se localiza después en las células del sistema reticuloendotelial donde sufre una segunda fase de multiplicación, presentándose posteriormente una segunda fase virémica. Una vez en el torrente sanguíneo, el virus se disemina a las mucosas y a la piel, en donde produce las lesiones locales típicas.

La viruela puede presentarse bajo distintas formas clínicas, que van desde una enfermedad febril leve, sin erupción, hasta un proceso fulminante que lleva rápidamente a la muerte.

Después del periodo de incubación, la enfermedad se inicia con síntomas vagos como cefalea, vómitos, dolores de espalda y miembros. Las primeras manifestaciones clínicas son úlceras dolorosas en la mucosa bucal, y máculas, primero en la cara y antebrazos, las cuales posteriormente se transforman en pápulas, estas pápulas progresan hasta invadir el tronco y las palmas de las manos. Dos o tres días después de la erupción, las pápulas se transforman en vesículas que contienen un líquido transparente y al poco tiempo se vuelven opacas por la presencia de glóbulos blancos y células epiteliales de descamación. Después de 8 a 10 días de iniciada la erupción, las pústulas desarrollan una depresión central y empiezan a formarse costras que se desprenden a las 3 o 4 semanas, dejando en la piel las cicatrices características en forma de cráter.

El "alastrim o viruela menor" es similar a las variedades leves o moderadas de viruela, en el periodo de incubación y en los síntomas de la fase prodrómica, pero es clínicamente menos grave. La erupción local es leve y de corta duración en comparación con la viruela mayor, además puede confundirse fácilmente con un cuadro de varicela.

Las lesiones patológicas de la viruela incluyen dilatación capilar, infiltración del corion por células plasmáticas y proliferación de la capa de células espinosas. Las células epiteliales infectadas aumentan de tamaño, llenándose de vacuolas para finalmente degenerar, además en el citoplasma de estas células se observan los cuerpos de Guarnieri, que son cuerpos de inclusión eosinófilos rodeados de un halo claro. La presencia y aumento de restos celulares epiteliales, así como la infiltración de neutrófilos en el líquido de las vesículas es lo que favorece la transformación de las lesiones iniciales en pústulas. (Downie A.W. y Kempe C.H. en Lennette 1978).

INMUNIDAD. La inmunidad frente a la viruela es de larga duración y en ocasiones persiste durante toda la vida. Después de la inmunización, el período de protección es más corto que si se sufre la infección natural, sin embargo, aún cuando se llegue a producir una infección, la evolución clínica es más leve que en individuos no vacunados.

Después de la infección o inmunización aparecen los anticuerpos frente a cada uno de los antígenos víricos, siendo los primeros en detectarse los anticuerpos neutralizantes y los anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación, que aparecen aproximadamente al 3o. y 6o. día. Los anticuerpos fijadores del complemento aparecen al 7o. día y persisten en el torrente sanguíneo alrededor de 2 años.

Por otra parte el papel de la inmunidad celular, no está perfectamente claro, sin embargo, a nivel experimental los procesos de inmunidad celular parecen tener una extraordinaria importancia para impedir el paso del virus de una célula a otra (Blanden R.V. 1971).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. Ya que la viruela es una de las enfermedades virales que ha logrado erradicarse mundialmente, mencionaremos a manera de información la manera de como se efectuaba su diagnóstico. En áreas donde la viruela no era endémica o en donde ya se aplicaban eficaces programas de vacunación, el diagnóstico de laboratorio tenía una enorme importancia, - para poder detectar con rapidéz los primeros casos de un brote epidémico. El material con el cual podía diagnosticarse la viruela era el líquido de las vesículas, raspados y costras; estas muestras se examinaban en forma directa al microscopio buscando los cuerpos de Guarnieri o mediante técnicas serológicas como son la fijación del complemento, neutralización, hemoaglutinación e inmunodifusión. Sin embargo estas pruebas no permitían distinguir entre el virus de la vaccinia o el de la viruela, de modo que el procedimiento ideal para el diagnóstico definitivo era el tratar de aislar el virus en la membrana corioalantoidea de embrión de pollo de 11 a 13 días, o bien inoculando en cultivos celulares de distintas especies de animales, siendo las líneas más comunes las de riñón de embrión humano, riñón de mono y las células HeLa.

EPIDEMIOLOGIA. La viruela fué durante varios siglos el azote de la humanidad y causó miles de muertes, además de un alto porcentaje de individuos ciegos en todo el mundo, ya que el virus se encontraba ampliamente distribuido y era fácil de transmitirse, ya que la infección se efectuaba por contacto

directo de persona a persona o bien a través de fomites contaminados (utensilios, libros, ropa, polvo, etc.) debido esto, a que los virus resisten temperaturas ambientales, así como condiciones de desecación.

Fue en 1958 cuando la Unión Soviética propuso a la I.ª Asamblea Mundial de la Salud que invitara a todos los países a colaborar en un esfuerzo conjunto para erradicar la viruela; en ese año 63 países notificaron 280 000 casos, cifra muy inferior a la realidad, por lo que tras un detenido estudio, la asamblea acordó en 1959, que se emprendiera con carácter de urgencia un programa mundial de erradicación de la viruela. Se pensaba que vacunando o revacunando al 80% de la población en el plazo de 4 a 5 años sería posible erradicar la viruela de las zonas de endemia. En los 8 años siguientes la OMS alentó a los gobiernos a que emprendiesen programas de erradicación, les pidió donativos de vacuna antivariólica, promovió y coordinó estudios sobre cepas de virus vacunales y ayudó a muchos laboratorios a que iniciaran la producción de vacunas. Muchos países lograron interrumpir la transmisión de la enfermedad, sin embargo, otros no lo consiguieron por lo limitado de sus recursos, por lo que era necesario un nuevo plan intensivo de erradicación, que empezó en 1966 y en el que se invirtió gran parte del presupuesto de la OMS.

Las primeras campañas empezaron en 1967 y 2 años más tarde todos los países con excepción de Etiopía, que empezó en 1971, habían emprendido los programas. Un programa con ayuda de EEUU consiguió eliminar la viruela de 20 países de África Occidental y Central en solo tres años y medio. En Brasil y en Indonesia los últimos casos se detectaron en 1971 y en 1972, y en el verano de 1973, la transmisión de la enfermedad se había interrumpido en toda África menos en Etiopía, y en casi toda Asia. En este continente, la India, Pakistán y Bangladesh con una población total de 700 millones de habitantes, presentaron un problema especial, por lo que se hizo evidente la necesidad de una nueva estrategia de vigilancia epidemiológica basada en la búsqueda intensiva de casos, poblado por poblado y casa por casa. Gracias a una planificación minuciosa, a la adecuada preparación del personal y a la cooperación de las autoridades, la detección de casos fue cada vez más eficaz y a los dos años de iniciado el nuevo plan se registraba el 16 de oct. de 1975, el último caso de viruela en Asia en la isla de Bhola (Bangladesh). Se extinguía así la "viruela mayor", la forma más grave de la enfermedad que tenía una mortalidad del 20% o más.

A fines de 1975 solo Etiopía seguía infectada con viruela, sin embargo, la forma común era la viruela menor, cuyo porcentaje de mortalidad era solo del 1%. Por fin después de grandes esfuerzos por parte del personal capacitado y gracias a las operaciones de vigilancia y vacunación, en 1976 se registró el último caso en Etiopía. Sin embargo de este país, la viruela se propagó a Somalia y en marzo de 1977 se declaró éste lugar como una excepción; la OMS aportó entonces asistencia especial y en octubre de ese mismo año, pudo ser erradicada. Aun así, los equipos de vigilancia y detección continuaron durante más de dos años, tratando de descubrir nuevos casos. Se analizaron miles de muestras en los centros de diagnóstico de la OMS en Moscú y en Atlanta, ninguno de los cuales dió resultado positivo.

Durante los programas se comprobó que la viruela no podía subsistir más de 8 meses en un país sin ser detectada, por lo tanto se prolongaron los rastreos, para tener la certeza de que la propagación había terminado y la OMS envió comisiones internacionales de especialistas para comprobar que la transmisión estaba efectivamente interrumpida.

Por último, en 1978, el director de la Organización encomendó a una comisión mundial, que examinara los resultados obtenidos en cada país. Esta comisión en diciembre de 1979 llegó a la conclusión de que los estudios eran suficientes para certificar que ya no había ningún caso de viruela en el mundo y en 1980, la 33a. Asamblea de la Salud reunida en Ginebra declara oficialmente que la viruela ha sido erradicada por completo de todo el planeta.

PREVENCIÓN Y CONTROL. Las vacunas contra la viruela, que se usaron en los programas de erradicación eran preparadas con virus de vaccinia propagado en la piel de borregos o terneras y tratadas después con fenol al 1%, para evitar contaminación bacteriana, liofilizados o estabilizados con glicerol y almacenados a 0°C- 10°C.

Después de erradicada la viruela, la OMS ha recomendado que se suprima la vacunación en todos los países, excepto para los investigadores que trabajan con estos virus y que estén expuestos a contraer una infección, siendo el único caso en el que está justificada la vacunación, puesto que ahora el riesgo de complicaciones postvacunales, aun siendo muy pequeño, excede en mucho al riesgo de infección. Entre las complicaciones más graves, están la encefalitis, el eczema, necrosis cutánea en el lugar de la inoculación (vaccinia progresiva) y la vaccinia generalizada.

Aún con esto hay quienes vacilan en abandonar definitivamente la práctica de la vacunación cuando se plantean las siguientes interrogantes:

-¿ Ha quedado la viruela verdaderamente erradicada? -

La OMS practicó exhaustivas investigaciones documentales y exámenes sistemáticos de todos los presuntos casos de viruela y ninguno de ellos ha dejado la menor duda de que la viruela está erradicada.

-Los virus conservados en los laboratorios ¿Podrían causar epidemias?

Esto resulta improbable, en vista de que en la actualidad existen solo 6 laboratorios que manejan el virus variólico y además bajo muy estrictas medidas de seguridad.

- Otro problema lo presenta el que existan animales reservorios del virus; - hasta el momento no se ha demostrado la existencia de alguno.

- Las costras variólicas secas y desprendidas tampoco son un riesgo, porque los virus existentes en ellas se inactivan rápidamente.

- En cuanto a la posibilidad de que otros virus se transformen por mutación en virus de la viruela, los estudios efectuados hasta la fecha sobre los ortopoxvirus no han puesto de manifiesto ningún indicio de esto, y las investigaciones genéticas confirman que las diferencias entre la estructura genética del virus de la viruela y la de otros poxvirus son demasiado grandes para que dichas mutaciones sean probables.

Además de todo esto, la OMS sigue adoptando medidas de seguridad para confirmar que la desaparición de la enfermedad es definitiva y aún cuando la vacuna ya no se produce comercialmente, se mantienen reservas suficientes - para inmunizar a 200 millones de personas (Revista Salud Mundial, mayo 1980).

BIBLIOGRAFIA

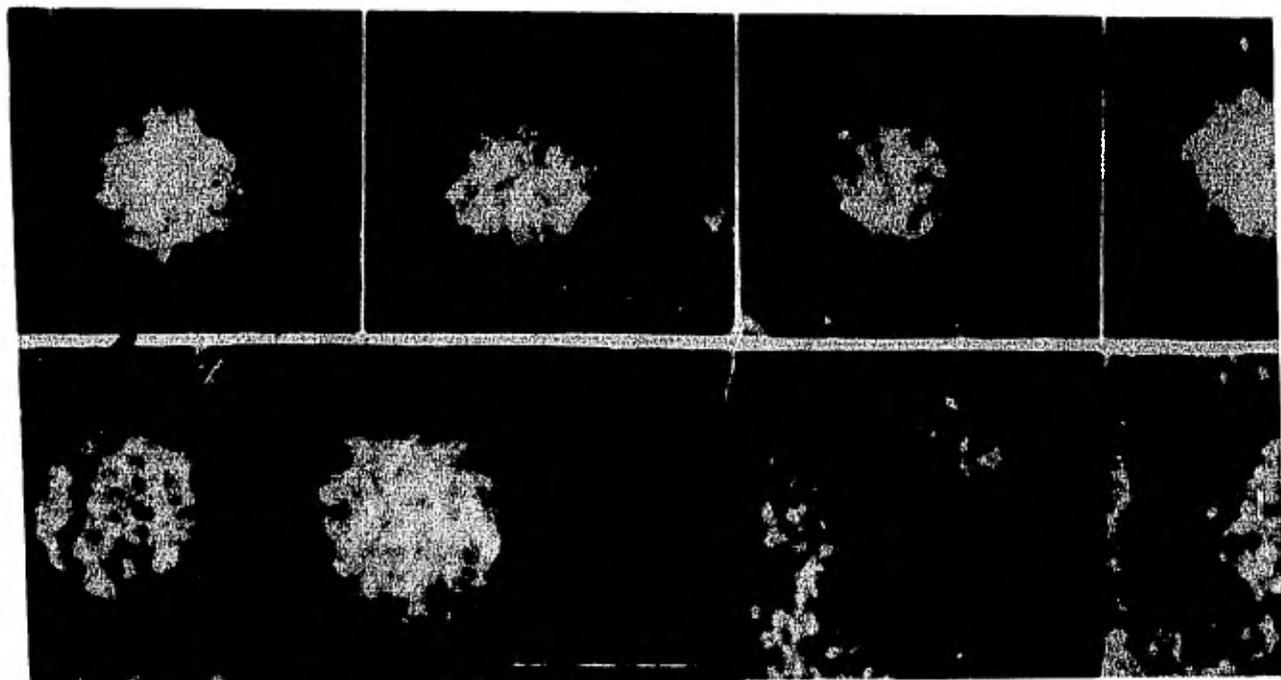
Andrewes S.Ch., Pereira H.G. and Wildy P.: Viruses of Vertebrates. Fourth ed. Baillieri Tindall and Co.Ltd. (1978).

Blanden,R.V.: Mechanims of recovery from a generalized viral infection.Passive transfer of recovery mechanims with immune lymphoid cells. J. Exp. Med. 133:1074, (1971).

Downie A.W. and Kempe C.H.: Poxviruses. In Diagnostic procedures for viral and Rickettsial Infections.pp.281-307.(E.H. Lennette and N.J. Schmidt,eds.) American Public Health Association, New York, 1978.

Revista Ilustrada de la Organización Mundial de la Salud. Mayo, 1980.

WHO Expert Committee on Smallpox Eradication: Second Report, Publication No. 493, World Health Organization Technical Report Series. Geneva: World Health Organization, 1972.



Virus de la hepatitis B

VIRUS DE LA HEPATITIS

La hepatitis es una enfermedad que se ha descrito desde hace mucho tiempo, pero no fué sino hasta el presente siglo cuando se pudieron identificar los agentes causales, debido en gran parte a que no se han obtenido resultados satisfactorios en la transmisión en animales de laboratorio y además aún no se han logrado cultivar de manera sistemática en cultivos celulares.

Aunque se conocen numerosos virus que pueden infectar el hígado de los animales y el hombre, como el citomegalovirus, el virus de la fiebre amarilla o el virus Epstein Barr, durante más de 30 años se han conocido por lo menos dos formas claramente definidas de hepatitis víricas agudas en el ser humano, que se distinguen por sus periodos de incubación y el modo especial de transmisión (W.S. Robinson).

Por mucho tiempo se ha conocido que una de estas formas suele adquirir características epidémicas y propagarse esencialmente por la vía oro-fecal (Hepatitis A), en tanto que la otra, más esporádica, se transmite principalmente por vía parenteral (Hepatitis B).

Por otro lado, el descubrimiento del antígeno Australia, antígeno circulante que se encuentra en el suero sanguíneo de los pacientes, y su anticuerpo homólogo, como indicadores específicos de la infección en una de las formas de la hepatitis, ha dado lugar a avances rápidos, en el conocimiento de la epidemiología, la inmunopatología y la patogénesis de esta enfermedad. Las dos formas de hepatitis clásica que son semejantes en sus aspectos clínicos y patológicos, pueden distinguirse actualmente, gracias a las pruebas de laboratorio específicas para los antígenos y anticuerpos relacionados con cada una. Sin duda, los adelantos en el diagnóstico específico de las hepatitis víricas han sido tales, que han dado lugar a que se reporte una forma diferente de la infección, causada por partículas que aparentemente no presentan ninguna relación con las descritas anteriormente. Esta forma recién descrita llamada hepatitis no-A y no-B, es la que se diagnostica con mayor frecuencia en algunas regiones del mundo, a consecuencia de transfusiones sanguíneas y de productos sanguíneos; se considera como una causa importante de hepatitis esporádica en los adultos, sin embargo, aún no existen criterios virológicos exactos acerca de este nuevo tipo de hepatitis (A.J. Zuckerman, 1980).

HEPATITIS A

PROPIEDADES GENERALES . Los estudios sobre el virus de la hepatitis A -

también llamada hepatitis infecciosa, han adquirido importancia a partir de 1973, en que se identificó al virus y más recientemente porque ha sido posible transmitir la infección en animales de laboratorio, además de haberse lo grado su cultivo in vitro.

Los virus de la hepatitis A (HAV), tienen un diámetro promedio de 27 nm y simetría cúbica, con dos componentes estructurales, carecen de envoltura y de subestructuras internas. Se pueden identificar dos variantes morfológicas, inmunológicamente indistinguibles: las partículas "llenas" que no se tiñen y contienen ácido nucleico, y las partículas "vacías", menos densas, sin ácido nucleico y en las que el colorante sí puede penetrar.

El ácido nucleico extraído de virus purificados, es una cadena simple - de ARN, con un PM promedio de 1.9×10^6 d.

El análisis de la composición polipeptídica revela 3 polipéptidos mayores con un PM de 34000, 25000 y 23000 d, los cuales pueden considerarse si milares a 3 o 4 polipéptidos de los poliovirus. No contienen lípidos.

Respecto a las propiedades antigénicas, se considera que existe un solo serotipo de los HAV, ya que comparaciones hechas con cepas de diferentes par tes del mundo provenientes de humanos o animales sugieren que todas ellas son antigénicamente similares, si no es que idénticas.

Los virus de la hepatitis A tienen una densidad en CsCl de 1.34 g/ml y un coeficiente de sedimentación de 160S. Pueden inactivarse por muchos agentes físicos y químicos que incluyen a la formalina, cloro, radiaciones UV, así como calentamiento a 98°C por un min; sin embargo, los HAV mantienen su infectividad después de exposición al calor por una hora a 60°C y de procesos de congelamiento y descongelamiento. Pueden conservarse a 4°C, -20 o -70 °C y resisten la exposición al éter, detergentes no iónicos y pH ácidos (W.S. Robinson; J.L. Diestang, 1980).

Entre los adelantos recientes que tienen importancia para el estudio de la infección por el HAV, figura la inoculación de ciertas especies de tities (*S. labiatus*, *Jacobus reifventer*, *Marikana laviata*) y algunos chimpancés, los cuales se emplean como modelos animales de la infección y además en el - desarrollo de métodos para cultivar in vitro a los HAV.

Provost y Hilleman en 1979, han probado que después de 31 pases es *S. - labiatus*, es posible propagar el virus, a partir de inóculos consistentes en una suspensión de hígado de tití infectado, en cultivos primarios de hígado obtenido de *S. labiatus* adulto, o bien en líneas celulares de riñón de mono

rhesus (FRhK6), en los que se han obtenido mejores resultados. Los periodos de incubación en los cultivos celulares, se acortan hasta 3 días después de pases seriados y por ejemplo, de las células FRhK6 se pueden recuperar hasta 10^7 unidades /ml del virus.

El éxito de la propagación de los HAV en los cultivos, permiten dar un paso adelante para la producción de una vacuna.

Tomando en cuenta las características anteriores, como son, diámetro, - densidad, coeficiente de sedimentación y la naturaleza del ácido nucleico, - cabría la posibilidad de agrupar a los virus de la hepatitis A en el subgrupo de los enterovirus; otro factor que puede tomarse en cuenta en un momento dado es su transmisión por vía oro-fecal, pero ésta clasificación no se ha aceptado universalmente, ya que otras características resultan distintas de - los enterovirus, por ejemplo, la estabilidad de los HAV al calor, el tamaño de su genoma que es más pequeño, y el hecho de que hasta el momento no se ha detectado un efecto citopático claro o distinguible.

PATOGENESIS. Los virus de la hepatitis A se adquieren por vía oro-fecal o bien, mediante ingestión de alimentos contaminados, aguas contaminadas, por fomites o por contacto de persona a persona, y aunque existen pocos reportes también se ha descrito una transmisión parenteral.

El periodo de incubación varía entre 15-40 días y algunos de los síntomas que se presentan en la fase prodrómica, son astenia y adinamia severas, fiebre, anorexia, dolor abdominal, náusea continua, fatiga y mialgia. Puede o no haber ictericia, y en caso de presentarse, aparece aproximadamente a las 2 semanas en forma brusca, observándose en la orina el color oscuro característico, continuando en la fase ictérica los primeros síntomas. Durante el periodo de incubación, la multiplicación del virus se efectúa en el hígado y tal vez en el tubo digestivo, ocasiona una viremia la cual no es de larga duración. De la replicación en el tubo digestivo, no se ha encontrado evidencia, de modo que se asume que la replicación de los virus se limita al hígado y que su presencia en las heces se deriva solo de las excreciones biliares (J.L. Diestang, 1980).

En modelos experimentales con animales, se ha observado que los títulos más altos de virus en el hígado aparecen durante el periodo en el cuál se elevan las transaminasas, o sea a los 20 a 25 días después de la inoculación. Por otro lado, en el humano, los virus se excretan en la materia fecal de los

enfermos durante la fase prodrómica , por lo general hasta 5 días antes de - que aumente la concentración de transaminasas en el suero, y solo se observan ocasionalmente después de que se inicia la fase ictericia, la cual no tiene un periodo definido, pero por lo general en la hepatitis A es cierto. En este punto, el hecho de que la excreción de los virus es más pronunciada en pacientes ictericos, que en anictéricos, sugiere que la intensidad de dicha excreción, antes de la fase icterica, es proporcional a la severidad de la enfermedad (M.S. Losowski, 1980).

Los HAV también se han detectado en el bazo, nódulos linfáticos abdominales y glomérulos de los animales de experimentación y aunque no se ha demostrado su presencia en la orina, los datos epidemiológicos, sugieren que pueda ser una fuente potencial de infección.(Zuckerman 1980; J.L.Diestang, 1980; A. G. Coulepis, 1980).

En cuanto a la patología de la enfermedad, las lesiones hepáticas producidas por los HAV, se caracterizan por degeneración y necrosis de las células parenquimatosas, proliferación de las células de Kupffer, inflamación y regeneración celular. En los focos necrosados se acumulan macrófagos así como linfocitos, células plasmáticas y neutrófilos (R.N. MacSween, 1980). Estas alteraciones desaparecen cuando el individuo evoluciona en forma satisfactoria. Una característica muy importante de la hepatitis por virus A es que nunca se desarrolla como un proceso crónico, ni se asocia con hepatoma celular o con enfermedades hepáticas crónicas.

INMUNIDAD. La infección por HAV confiere una inmunidad duradera, sin embargo, puede haber reinfección si existe contacto con dosis masivas del virus, además no se adquiere protección contra la infección por virus B u otros virus que causan hepatitis.

La aparición de los anticuerpos anti-HAV normalmente coincide con la necrosis hepatocelular y ocasionalmente se encuentran antes de los síntomas clínicos. Los anticuerpos contra los HAV son detectables en el suero durante toda la enfermedad, pero la infectividad del suero sugiere que los anticuerpos no son neutralizantes. Los títulos de anti-HAV en el suero continúan aún después de la fase aguda de la enfermedad y alcanzan los niveles máximos 2 o 3 meses después, permaneciendo relativamente elevados y detectables indefinidamente.

Los anticuerpos que aparecen durante la fase aguda, son predominantemente de tipo IgM y se encuentran solo en pequeñas fracciones comparadas con la

con la concentración total de IgM en el suero.

Los anticuerpos de tipo IgG aparecen gradualmente y alcanzan altos niveles durante la fase de convalecencia, además mientras que los anticuerpos tipo IgM son transitorios, los tipo IgG persisten y pueden ser detectados muchos años después de la infección aguda.

Aceroa de la respuesta inmune de tipo celular, no existen hasta la fecha reportes que hablen sobre este tipo de respuesta inducida por el virus de la hepatitis A.

EPIDEMIOLOGIA. Los virus de la hepatitis A se encuentran distribuidos mundialmente y el hombre constituye el único huésped natural del virus, aunque puede transmitirlo a otros primates como monos, chimpancés, gorilas etc. y estos posteriormente transmitirlos a las personas que los manejan.

La infección por HAV se favorece por la falta de hábitos higiénicos y servicios sanitarios adecuados por lo que las mayores epidemias se cuentan entre las poblaciones que viven bajo estas condiciones, además también influyen en la transmisión de la infección, el contacto íntimo y prolongado con el sujeto infectado, de aquí que se lleguen a infectar más fácilmente las personas que conviven dentro del mismo lugar por ejemplo, los familiares del paciente, poblaciones escolares, institutos militares, prisiones etc.

Los brotes epidémicos suelen frecuentemente tener su origen por la contaminación del agua potable y alimentos con heces, por ejemplo, la ingestión de alimentos crudos o mal cocidos o bien de mariscos criados en aguas que en algún momento pueden contaminarse con aguas negras o de desecho, representando un riesgo considerable como fuente de infección por virus de la hepatitis.

Las encuestas serológicas han demostrado recientemente que la hepatitis A en raras ocasiones o nunca se ha transmitido por transfusiones sanguíneas; aún cuando se ha visto que sí puede transmitirse experimentalmente inoculando animales con suero que contenga a los virus. Tampoco se ha observado una alta incidencia en aquellos individuos que son adictos a drogas de aplicación intravenosa, ni en sujetos que deben someterse a hemodiálisis etc.

Por otro lado, los casos subclínicos o anictéricos son frecuentes y pueden ser puntos de partida para la propagación de la enfermedad y para que el virus se mantenga en la naturaleza, sobre todo en aquellos países de bajo nivel económico, en los que a temprana edad se tiene contacto con el virus, de la hepatitis A.

Aunque generalmente la mortalidad es reducida, se han comunicado tasas altas de muertes en algunas áreas del SE de Asia, norte de Africa e India , principalmente entre mujeres que contraen la hepatitis durante el segundo o tercer trimestre del embarazo. Respecto a esto, no hay datos seguros de que el virus A pueda cruzar la placenta, infectar al feto o producir anomalías congénitas, pero sí se ha observado una mayor predisposición a tener abortos o partos prematuros.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. El diagnóstico de laboratorio de la infección causada por virus de la hepatitis A, generalmente se hace detectando la presencia de anticuerpos específicos; aunque teóricamente sería factible identificar el antígeno viral en suero, esto no se efectúa porque la duración de la etapa de viremia es limitada. En cuanto a las heces, a pesar de la abundancia con que se excreta el virus en ellas en la fase prodrómica, éste disminuye rápidamente para cuando el paciente solicita atención médica . Por éstas razones, aún cuando el diagnóstico clínico de la hepatitis es tardado, se puede hacer un diagnóstico serológico muy fácil demostrando la presencia de anti-HAV durante la fase aguda y convaleciente. Sin embargo, mientras en otras enfermedades virales, un aumento de 4 veces en el título de anticuerpos después de 2 a 3 semanas de la fase aguda, podría considerarse como significativa, en este caso, debido al periodo de incubación y al curso que sigue la infección, sería un intervalo muy corto para distinguir un aumento en los títulos de anticuerpos entre la fase aguda y la convaleciente, por lo que se recomienda hacer una titulación en un intervalo de 1 a 2 meses. Aunque en la mayoría de los casos, es preferible hacer el diagnóstico durante la fase aguda sin tener que esperar a obtener una muestra de suero de la fase convaleciente.

Las técnicas que actualmente se utilizan para el diagnóstico de la hepatitis A son : inmunomicroscopía electrónica, fijación del complemento, hemaglutinación, inmunocitoadherencia (IAHA), radioinmunoensayo, ELISA e inmunohistoquímica (PABA) en la cual es posible detectar al virus en cortes de tejidos infectados.

La detección de anti-HAV se puede realizar de igual manera que se ha descrito para cualquier otro virus, por las pruebas mencionadas antes, excepto el método de IAHA, en la que los anticuerpos anti-HAV son detectables 1 o 2 semanas después de la fase aguda, por lo tanto se puede utilizar la combinación de un resultado negativo con uno positivo por cualquier otro método serológico, como

una evidencia presuntiva para un diagnóstico de hepatitis A aguda.

PREVENCIÓN Y CONTROL. Las medidas preventivas para controlar la propagación de la hepatitis A, consisten en mejorar las condiciones de vida, proporcionando a la comunidad servicios sanitarios suficientes y estableciendo normas de higiene adecuadas.

Con respecto a las medidas profilácticas sería ideal la inmunización activa a través de vacunas, y ya que actualmente el virus ha podido ser cultivado *in vitro*, cabe esperar el desarrollo de una vacuna en un futuro muy próximo.

Aunque el suero de animales infectados con la cepa MS-1 inactivado por un minuto a 98°C no resultó protector, recientemente Provost y Hilleman reportaron la seguridad, inmunogenicidad y eficacia de una vacuna preparada a partir de extractos de hígado de tífes infectados, inactivados con formalina. Sin embargo, hasta que el uso de alguna vacuna sea autorizada por la OMS, se continuará dependiendo de la inmunización pasiva con globulina sérica inmune, preparada a partir de mezclas de plasma humano, precipitado con etanol frío.

La administración intramuscular de inmunoglobulina sérica, puede evitar o atenuar las manifestaciones clínicas de la enfermedad, confiriendo una inmunidad pasiva-activa; se ha comprobado que individuos que tienen en el cuerpo anticuerpos preexistentes contra hepatitis A, son inmunes a una reinfección. Cuando la inmunoglobulina sérica (ISG) no es capaz de proteger contra la infección, se puede presentar una hepatitis subclínica o asintomática.

La ISG puede emplearse como medida preventiva bajo ciertas condiciones y la dosis recomendada, por ejemplo en personas que están en contacto directo con personas enfermas es de 0.02 ml/kg de peso corporal, también se recomienda en personas que van a viajar a áreas endémicas. En el caso de viajeros que permanecerán en las zonas endémicas por más de 3 meses se recomiendan dosis de 0.05ml/kg de peso, pudiendo repetir las dosis cada 4-6 meses, en exposiciones prolongadas (Diestang J.L. 1980).

HEPATITIS B

En los últimos años se ha acumulado una enorme cantidad de datos sobre los aspectos epidemiológicos, víricos e inmunopatológicos de la hepatitis tipo B.

En 1968, Blumberg y cols. identificaron un antígeno en el suero de aborígenes australianos hospitalizados, que habían recibido múltiples transfusiones, dicho antígeno se asoció a hepatitis post-transfusional y más tarde específicamente a hepatitis tipo B.

ven como "indicadores" de la infección aún en ausencia del HBV en el suero.

A_gHB_s. El antígeno de superficie o antígeno Australia, fué descubierto por Blumberg y cols. en 1968 mientras estudiaban las proteínas del suero de algunos aborígenes australianos, y a partir de esta fecha se han logrado avances importantes que han permitido conocer la estructura y propiedades del virus de la hepatitis tipo B.

La gran reactividad del A_gHB_s es superior a la complejidad morfológica que se observa mediante la microscopía electrónica; así, mediante minuciosos ensayos serológicos se ha determinado que el A_gHB_s comparte un antígeno "a" específico de grupo y posee por lo menos dos determinantes exclusivos, que pueden ser "d ó y" y "w ó r". Los subtipos resultantes son expresiones fenotípicas de claras variaciones genotípicas del virus. Se han reconocido 4 fenotipos principales que son adw, ayw, adr y ayr. Posteriormente se han descrito 8 subtipos del A_gHB_s: ayw₁, ayw₂, ayw₃, ayw₄, ayr, adw₂, adw₄ y - adr, y aunque no parece existir relación entre los diferentes subtipos y las formas clínicas de la enfermedad, estos subtipos sirven como indicadores epidemiológicos de gran valor que permiten localizar la zona o lugar que es considerado como foco de infección, ya que cada uno de los subtipos predomina en diferentes áreas del mundo.

El A_gHB_s aparece en la sangre poco tiempo después de la infección con el HBV y además la forma en que se encuentra en mayor abundancia es como partículas incompletas esféricas, de un diámetro de 16 a 25 nm., (partículas de 22 nm) presentes en una concentración de hasta 10¹³ partículas/ml., y también se encuentra en formas filamentosas de 22 nm., con una longitud variable de hasta 1000 nm.

El análisis de extractos purificados de A_gHB_s revela una composición bioquímica compleja, que consiste de 7 a 9 polipéptidos, incluyendo 3 glicoproteínas, colesterol, 3 lípidos polares y 2 glicolípidos, no encontrándose ácido nucleico en las partículas de 22 nm.

Un hallazgo muy importante es que los polipéptidos estudiados parecen contener los mismos determinantes antigénicos de grupo y de tipo, por lo que se ha sugerido que si bien los polipéptidos no son iguales, comparten al menos algunas secuencias de aminoácidos.

A_gHB_c. El segundo sistema antigénico indicador es el A_gHB_c ó antígeno del core, que se encuentra en la sangre, solo como un componente interno de

Los primeros estudios al microscopio electrónico del denominado antígeno Australia, revelaron solo partículas filamentosas y esféricas de 22 nm. que contenían lipoproteínas pero no ácido nucleico .

Posteriormente, en 1970, Dane describió unas partículas de 42 nm., cuya capa externa presentó propiedades idénticas a los fragmentos pleomórficos de 22 nm., observados anteriormente por Blumberg, pero morfológicamente distintas. Después se observó que además, éstas partículas llamadas "partículas - Dane", poseían una subestructura interna o core de 27 nm., de diámetro y presentaban actividad de ADN polimerasa. Una vez reconocidos estos componentes virales y tomando en cuenta los subsecuentes estudios seroepidemiológicos, - se llegó a la conclusión de que la partícula Dane es el virus de la hepatitis B (H.J. Czaja, 1979).

CARACTERISTICAS GENERALES. Los virus de la hepatitis B (HBV) ó partículas Dane, tienen un diámetro de 42 nm., poseen una cubierta exterior que - contiene lípidos y se ha demostrado que el centro o core del virus tiene una subunidad estructural de simetría icosaédrica y actividad de DNA polimerasa.

Su genoma es de ADN circular de doble cadena, con un PM de aproximadamente 1.6×10^6 d , contiene 3600 nucleótidos y una región de cadena simple con 600-2100 nucleótidos. Posee un coeficiente de sedimentación de 13 a 14 S.

Los virus de la hepatitis B mantienen su infectividad durante 6 meses - almacenados a 30-32°C, y durante 15 años congelados a -20°C, su resistencia a los agentes químicos es muy alta, pero se destruyen en un minuto a 98°C ó por desecación a 160°C.

Aunque no se ha demostrado directamente que la partícula Dane sea infecciosa, varias propiedades sugieren que sí lo es: el antígeno de superficie - provoca una respuesta inmune, su core contiene un antígeno específico, su tamaño concuerda con el de los virus infecciosos determinados por ultrafiltración en extractos de hígado purificados, es la única forma del virus que contiene ácido nucleico y éste se ha encontrado solo en hígado infectado. (Robert W. McCollum y A.J. Zuckerman, 1981).

PROPIEDADES ANTIGENICAS. Los virus completos poseen tres antígenos, un antígeno superficial (AgHBs) ó antígeno Australia que se encuentra sobre la superficie del virus, un antígeno en el core o centro del virus (AgHBc) y el antígeno e que se encuentra en la parte más interna (AgHBe), los cuales sir-

las partículas Dane y no se ha detectado libre en el suero. Estas partículas de 27 nm., tienen actividad de ADN polimerasa pero la mayoría de ellas carecen o tienen poco ADN.

El AgHBe se considera como un antígeno virus-específico porque solo ha sido encontrado en infecciones por HBV; recientes evidencias indican que contiene un polipéptido predominante de 17 000- 19 000 d, y hasta ahora no se han descrito variaciones antigénicas.

AgHBe. Este antígeno fué descubierto en 1972, es física y antigenicamente distinto de los AgHBs y AgHBc, existe en el suero como una proteína de aproximadamente 17 000- 20 000 d; ha sido difícil purificarlo y aún no está bien caracterizado químicamente, pero parece tener 2 ó 3 determinantes antigénicos: AgHBe, AgHBe₂ y AgHBe₃ (Vincient J. McAuliffe, 1980).

El AgHBe se ha detectado solo en sueros que son positivos, es decir, que contienen el AgHBs, aunque recientemente algunos ensayos sugieren que la producción de los dos antígenos puede ocurrir independientemente (E. Tabor, 1980). La respuesta de anticuerpos que sigue a la infección con HBV sugiere que es un antígeno virus-específico.

Se piensa que es un complejo de antígenos ya que se han detectado más de un componente por difusión en gel, y recientes experimentos demuestran que está íntimamente relacionado con el AgHBc del cual se libera como un derivado cuando éste último se somete a tratamientos disruptivos con distintos agentes como 2-mercaptoetanol, dodecilsulfato y pronasa (P. Mackay y cols., 1981).

En el suero de portadores crónicos se ha encontrado el AgHBe cuando existen altas concentraciones de partículas Dane, y su presencia se ha relacionado con una mayor probabilidad de transmitir la enfermedad a otras personas (W.S. Robinson, 1976; J. Aldershville y cols. 1980).

PATOGENESIS. Los virus de la hepatitis B se transmiten principalmente por vía parenteral y en la actualidad se ha definido claramente la importancia relativa de otras vías de transmisión como pueden ser saliva, semen, secreciones vaginales, leche materna y exudados serosos, aunque la principal fuente de contagio sigue encontrándose en la sangre (R.M. Scott y cols., 1980). Las lesiones anatomopatológicas causadas por el virus de la hepatitis B son básicamente las mismas que las causadas por el virus de la hepa-

titis A, las principales diferencias radican fundamentalmente, en el periodo de incubación, que es más largo en la hepatitis B y puede variar desde 14 hasta 180 días, la fase icterica se presenta en forma incubosa, generalmente el virus no se detecta en heces, además de que comunmente se observa el estado de portador en forma persistente y se le ha asociado con el establecimiento de algunas enfermedades hepáticas de larga duración, como la hepatitis activa crónica, cirrosis hepática y en el posible origen de carcinomas hepatocelulares.

Estado de Portador. Un paciente que ha sufrido hepatitis B por más de 20 semanas y en el que se detecta el antígeno de superficie por más de 3 meses, se define como portador persistente o crónico. Además otro indicio del estado de portador es la presencia de antiAgHBc en ausencia de AgHBs.

El estado de portador se puede favorecer dependiendo de varios factores: es más frecuente en el hombre que en la mujer, es más probable después de una infección contraída en la infancia que después de una adquirida en la edad adulta, es asimismo, más probable en pacientes con deficiencias inmunitarias y otro factor que determina la presencia de portadores es la transmisión transplacentaria del virus o bien cuando se adquiere la infección en el momento del parto.

El estado de portador, y por lo tanto la prevalencia del AgHBs se ha reportado con mayor frecuencia en niños de 4 a 8 años, descendiendo la incidencia entre los individuos de mayor edad, del mismo modo, el AgHBc aparece con más frecuencia entre los portadores jóvenes que en los adultos, en tanto que el anticuerpo contra éste antígeno parece aumentar con la edad.

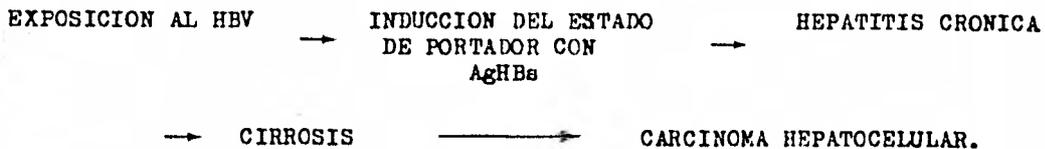
Los portadores pueden ser totalmente asintomáticos, sin lesión hepática aparente o significativa, ó asintomáticos con daño hepático detectable por pruebas de funcionamiento hepático, considerandose como estrictos portadores crónicos solo a los primeros (R.N. MacSween, 1960).

Se calcula que existen en el mundo entre 120 y 175 millones de portadores persistentes, de aquí la urgencia de aclarar los mecanismos que determinan el incremento de portadores en las regiones endémicas.

Carcinoma Hepatocelular. En las décadas de 1940 y 1950 varios investigadores reportaron estudios sobre la transición de hepatitis a cirrosis y

carcinoma hepatocelular, sugiriendo que la hepatitis viral podía estar etiológicamente relacionada con el carcinoma; sin embargo, ésta posibilidad quedó relegada hasta el descubrimiento del AgHBS. Estudios efectuados en diversas partes del mundo, indican que se detecta un exceso significativo del AgHBs, su anticuerpo correspondiente y el AgHBc, en los enfermos de cáncer primario, siendo seropositivos más del 75% de los casos.

Los eventos que suceden según la hipótesis que relaciona al HBV con el carcinoma son los siguientes:



Cada uno de ellos se asocia a factores de riesgo específicos que van desde socioeconómicos hasta costumbres sexuales del huésped.

Una consideración que ayuda a mantener la teoría de que los HBV se relacionan con el carcinoma hepático, es que la hepatitis B prevalece en las regiones donde la cirrosis macronodular y el cáncer del hígado son frecuentes (Wolf Szmuner, 1978).

También se ha sugerido que un factor importante puede ser el contagio en una edad temprana, puesto que en las regiones del mundo donde la tasa de carcinoma hepático es muy alta, la infección por el virus de la hepatitis B y la condición de portador se observan con mayor frecuencia entre recién nacidos y en niños.

Otra posibilidad es que la infección persistente por HBV conduzca a un cuadro de cirrosis y el carcinoma se forme a partir de los nódulos regenerativos por mecanismos en los que no interviene el agente infectante, como parece suceder en los casos de cáncer hepático en enfermos de cirrosis alcohólica (S.J. Hadzivannis, 1980).

Ahora bien, las pruebas de laboratorio que sustentan esto, se basan en la reacción de la ADN polimerasa viral sobre el ADN que se extrae del tejido hepático (A.J. Zuckerman, 1980), y actualmente se está trabajando con híbridos de ADN y líneas celulares cancerosas para tratar de esclarecer los hechos (J.C. Edman, 1980).

Aunque se han logrado numerosos avances todavía no se conocen los me-

oanismos exactos que intervienen realmente en la carcinogénesis hepatocelular y quizá sea el resultado de muchos factores, desde genéticos, inmunológicos, químicos, etc., y que el HBV también actúa como agente oncogénico o al menos como "coadyuvante" sobre los hepatocitos infectados.

INMUNIDAD. La respuesta inmune a la infección por el virus de la hepatitis B se desencadena por los tres tipos de antígenos virales y existen — pruebas de que la patogenia de las lesiones que se observan en el curso de la enfermedad, están relacionadas con esta respuesta.

El AgHBs aparece en el suero sanguíneo durante el periodo de incubación de la enfermedad aguda, entre 4 y 6 semanas después del contagio y entre 2 y 8 semanas antes de las manifestaciones bioquímicas o de que se inicie el cuadro icterico. Este antígeno perdura durante la fase aguda y generalmente se elimina en la fase convaleciente. El anticuerpo correspondiente es el último en aparecer y existe la posibilidad de que un aumento en su producción puede causar una reacción de Arthus provocando una hepatitis fulminante.

El anticuerpo contra el AgHBc aparece en el suero entre 2 y 10 semanas después del anticuerpo dirigido contra el AgHBs y generalmente con más frecuencia en los individuos portadores.

Por otro lado, la presencia del antígeno e se considera como un pronóstico desfavorable y en la gran mayoría de los casos, la infección puede degenerar en una hepatopatía crónica.

La inmunidad celular contra los antígenos del virus de la hepatitis B ha sido demostrada en la mayor parte de los pacientes durante la etapa aguda, y las observaciones indican que éste tipo de inmunidad puede ser un factor importante para controlar la infección, promover las lesiones hepáticas o producir autoinmunidad, de modo que el funcionamiento normal de las células T sería un requisito para que la evolución de la hepatitis se controlara espontáneamente, ya que existen pruebas de que las lesiones hepáticas — progresivas, pueden obedecer a una sensibilización y a una reacción de autoinmunidad dirigida contra los hepatocitos (R.W. McCollum y A.J. Zuckerman, 1981; A.J. Zuckerman, 1980).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO. Para el diagnóstico de la hepatitis se puede recurrir, sobre todo en pacientes ictericos, a las pruebas de funcionamiento hepático tales como la cuantificación de transaminasas, bilirrubina

en orina y sangre, enturbiamiento del timol y la prueba de la bromosulfotaleína. En cuanto a las técnicas serológicas para detectar los antígenos y anticuerpos correspondientes en el suero o plasma de los pacientes, se emplean: la contraelectroforesis, fijación del complemento, inhibición de la hemoaglutinación, inmunodifusión en gel de agarosa, inmunofluorescencia, radioinmunoensayo, ELISA, etc., presentando cada uno, diferencias en su sensibilidad, rapidéz y costo, de modo que su empleo dependerá de las posibilidades de cada laboratorio (W.A. Gerlish, 1980).

El diagnóstico podría hacerse exclusivamente con una muestra obtenida en la fase aguda o icterica, sin esperar a obtener la muestra de la fase convaleciente, ya que en ocasiones no reporta utilidad el comprobar una seroconversión.

Además en el caso de que no se detecte en el suero del paciente, el AgHBs, que es el que se identifica más facilmente, se pueden hacer pruebas para demostrar la presencia del AgHBe (E. Tabor, 1980), o bien se puede establecer el diagnóstico cuantificando la actividad de ADN polimerasa en el suero, y algunos investigadores sugieren que este ensayo puede facilitar el diagnóstico temprano de la hepatitis (R.Cappel, F.de Cuyper, 1977; A.Alberti y cols. 1981).

EPIDEMIOLOGIA. Los conceptos epidemiológicos de la hepatitis B han cambiado en el transcurso de los últimos años, sobre todo ante la evidencia de que el virus no solo se puede transmitir a través de la sangre y sus productos, sino además por la saliva, contacto sexual, leche materna, exudados serosos y en áreas tropicales por las picaduras frecuentes de artrópodos hematófagos que actúan como vectores; aunque aún no ha sido aclarado el papel de los insectos en las transmisiones de la hepatitis B, se ha encontrado el Ag de superficie en varias especies de mosquitos.

Se ha observado también que la enfermedad es endémica en instituciones cerradas y prevalece entre los adultos que habitan en las ciudades, siendo responsables de esta situación el elevado porcentaje de portadores, así como la amplia distribución de antígeno de superficie en regiones geográficas, observándose una alta incidencia entre las clases socioeconómicas bajas.

Se ha reportado también, que la transmisión a través de la sangre y sus productos, ocupa un lugar preponderante como una de las principales formas de contagio en las regiones donde la prevalencia de la enfermedad es reduci-

da, en éste caso la transmisión puede ser accidental, a causa de la ineficacia en cuanto a las medidas de esterilización de agujas, material quirúrgico, etc.

Un factor importante de la prevalencia del virus en algunas regiones es la posibilidad de que la madre portadora transmita el virus a sus hijos durante la etapa perinatal. El riesgo de infectar a los hijos puede ser de hasta un 40 a 50% sobre todo en las regiones donde la tasa de portadoras es elevada. Entre los factores importantes para determinar la posibilidad de que se transmita la infección de la madre al hijo, figuran los antecedentes de contagio a otros hijos y un título alto de antígeno de superficie, así como la presencia del antígeno "b" en la sangre materna.

En general se estima que la incidencia de hepatitis B en el mundo está directamente relacionada con el nivel socioeconómico de la población, y por lo tanto en los distintos grupos sociales existen diferentes riesgos para contraer la enfermedad; además entre las personas susceptibles de adquirir la infección se encuentran pacientes que frecuentemente reciben transfusiones sanguíneas o sus productos, aquellos a los que se les practica hemodiálisis continua, personal de laboratorio, hospitales, personal de instituciones para niños y retrasados mentales, homosexuales, etc.

PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO. No existe tratamiento efectivo contra el virus de la hepatitis B. La medida más efectiva consiste en el control y buen manejo de la sangre y sus productos, lo mismo que de los donadores, sin embargo, el desarrollo y disponibilidad de pruebas serológicas para los "indicadores" de la infección están permitiendo adelantos en el campo de la inmunización pasiva (Inmunoglobulinas) y activa (desarrollo de vacunas) (A.J. Zuckerman 1980; G.F. Grady 1975). Así en el informe 602 (1977) del Comité de Expertos de la OMS, se establece que, en términos generales, la inmunoglobulina contra la hepatitis B posee cierta eficacia, para proporcionar inmunidad transitoria y por lo tanto está indicada en los siguientes casos:

- 1.- Como profilaxia a un contacto único y agudo con el virus, por ejemplo, accidente con agujas o pipetas contaminadas.
- 2.- En medios "endémicos", como los servicios de hemodiálisis o personas expuestas al contagio prolongado (personal hospitalario o familiares).

Y no está indicada su aplicación en:

- 1.- En individuos que posean un título apreciable de anticuerpos contra el AgHBs y por lo tanto son resistentes a la enfermedad.

2.- Después de una transfusión sanguínea, siempre que se haya comprobado que la sangre empleada no contiene AgHBs.

Por otro lado, la inmunoglobulina ha sido usada como inmunoterapia en pacientes con hepatitis crónicas, pero sin obtenerse muy buenos resultados (A.J.Zuckerman, 1980).

Respecto a la inmunización activa, se necesita una vacuna para los individuos que se encuentren en riesgo constante de sufrir una infección, por ejemplo, enfermos que requieren transfusiones repetidas de sangre, o con deficiencias inmunitarias, individuos con riesgo profesional, toxicómanos, homosexuales, prostitutas y aquellos que viven en condiciones socioeconómicas bajas, así como en las zonas en las que existe una prevalencia alta, principalmente países subdesarrollados (Zuckerman, 1976; Zuckerman 1980).

Los repetidos fracasos al tratar de cultivar el virus, han impedido la elaboración de una vacuna clásica, por lo que se ha explorado actualmente, el empleo de otro tipo de preparaciones inmunogénicas.

El primer intento para obtener un inmonógeno que sirviera como vacuna - fué realizado por Krugman y cols., quienes calentaron el suero diluido de portadores crónicos a 98°C por un minuto, y demostraron su relativa eficacia en individuos susceptibles. A partir de este resultado, se han efectuado otros estudios, por ejemplo, Soulier calentó el suero a 60°C durante 10 horas, pero no logro inactivar completamente al virus (V.J.McAuliffe et.al. 1980).

Las actuales perspectivas para la producción de una vacuna, reemplazaron el uso de suero completo, por preparaciones altamente purificadas de partículas subvirales de 22 nm, que contienen al AgHBs, las cuales han sido inactivadas por diferentes procedimientos, por ejemplo, con formaldehído a rangos variables de temperatura, diferentes concentraciones e intervalos de tiempo. Además el descubrimiento de que los chimpancés son susceptibles a la infección por HBV (L.F.Barker, 1975) ha sido de gran utilidad para comprobar la seguridad y eficacia de estas vacunas, antes de su aplicación en humanos.

Por otra parte, en diversos laboratorios se investiga la posibilidad de elaborar a partir de los polipéptidos integrantes de las partículas esféricas de 22 nm, del AgHBs (vacuna de fracciones purificadas). Estas vacunas deberán ofrecer un margen de seguridad mayor que el de las vacunas obtenidas a partir de las partículas completas de 22 nm, puesto que existirá una probabilidad menor que contengan virus infectantes o proteínas contaminantes propias del huésped, ya que estas en algunos individuos podrían causar reacciones

adversas de autoinmunidad. A la fecha, los principales problemas relativos a las vacunas de fracciones purificadas se derivan de la dificultad para obtener cantidades importantes, de estos péptidos en forma pura y de la baja acción inmunogénica si se compara con las partículas de 22 nm.

Por último también se están estudiando algunos productos que actúan contra los virus de ADN como el arabinósido de adenina (Ara-a), y ciertos interferones obtenidos a partir de leucocitos, fibroblastos humanos, y el inducido por un derivado de la carboximetil celulosa (PICLC).

ALGUNAS VACUNAS VIRALES CONTRA LA HEPATITIS B*

REFERENCIA	SUBTIPO DEL AgHBs	FORMA DE LA VACUNA	DOSIS EN ug/ml	METODO DE INACTIVACION
Hilleman et al.	adw	Partícula de 22 nm	20-40	Formaldehído 1:4000, 37°C durante 72hrs.
Purselly Gering	adw	Partícula de 22 nm	20-50	Formaldehído 1:2000, 37°C durante 96hrs.
Hollinger et al.	adw+ayw	Polipéptido de PM 22-25000 d	40	—
Maupas et al.	ad+ay	Formas mixtas de las partículas subunitarias	2-10	Formol 1:2500, 37°C por 48 hrs, 4°C, 7 días.
Reesink et al.	ad	Partículas de 22 nm	25	Calor, 101°C por 90 seg ó 65°C por 10hrs.
Shikata	adr	—	20	Calor, 60°C por 10hrs, for mol 1:2000 a 37°C por 96hrs.
Tao et al.	NE	Partículas esféri cas	NE	Formol 1:1000, condiciones no especificadas
Cabasso	adw+a ₁ w	Partículas de 22nm y filamentos	NE	Calor, 60°C por 10hrs, formol
Prince et al.	adw	Partículas de 5nm	50	Tween 80 al 1% y formol 1:2000 a 37°C por 72hrs.

NE No. especificado

* V.J. McAuliffe, 1980

HEPATITIS NO-A NO-B

El hecho más reciente en el estudio de los virus de la hepatitis es la clasificación de un gran número de casos dentro de la categoría de hepatitis causada por agentes denominados No A- No B, y a pesar de la ausencia -- o confirmada de una partícula infecciosa o una prueba de diagnóstico específica, hay un gran número de evidencias circunstanciales y directas de que el agente No A- No B es la causa mayor (90% de los casos) de hepatitis asociadas a transfusiones y una de las causas sobresalientes de hepatitis crónica activa.

En EEUU se observó en 1974, que un agente distinto al de la hepatitis B produjo más del 70% de los casos detectados durante un estudio seroepidemiológico de hepatitis posttransfusionales, pero sus características clínicas y epidemiológicas tampoco correspondían a las del virus tipo A, por lo que se reconoció la existencia de un tercer tipo de agente como causa de -- las hepatitis, que es el que ha sido designado como partícula NoA-No B.

El agente No A-No B, no se ha podido caracterizar, sin embargo se ha reportado que en el suero de pacientes convalecientes con diagnóstico de hepatitis No A- No B, establecido por exclusión de hepatitis A ó B, aparecen agregados de partículas de 27 nm., (R.W. McCollum y A.J. Zuckerman, -- 1981), además en estudios al microscopio electrónico de biopsias de hígado de pacientes con hepatitis No A-No B crónica se observan agregados de partículas de 20 a 35 nm., de diámetro que pudieran considerarse como los virus causantes de ésta enfermedad (M. Bamber et. al., 1981).

Las encuestas serológicas, por otra parte, demuestran que es un agente distinto al de la hepatitis A, hepatitis B y otros virus que producen procesos hepáticos como los citomegalovirus o virus Epstein-Barr. Además se cree que existen más de un tipo de partículas No A-No B, por la presencia de un alto número de casos de hepatitis en un mismo paciente.

Recientemente se han identificado, por inmunofluorescencia directa, -- dos tipos de antígeno, en pacientes que presentan infección por agente NoA No B, denominados NANBe y NANBo, de los cuales, el primero presenta reactividad cruzada con el AgHBc y tiene las mismas propiedades físicas, por -- lo que se piensa que los virus de la hepatitis B y los de la NoA-NoB se en

cuentran muy relacionados (C. Trepo et al., 1981).

En cuanto a la patogénesis, aunque la mayoría de los casos de hepatitis NoA-NoB, se presentan después de transfusiones, existen evidencias de que el agente se puede transmitir por otras vías que no sean la vía parenteral, como por ejemplo el contacto de persona a persona.

El cuadro clínico de la hepatitis No A- NoB, difiere de las formas clásicas de la hepatitis en que el periodo de incubación tiene una duración intermedia entre el de la hepatitis tipo A y el de la hepatitis B, siendo en la mayoría de los casos de 5 a 12 semanas después del contagio.

El proceso de la hepatitis No-A No-B cursa de una manera menos severa que el de la hepatitis B, ya que más del 60% son anictéricos, con muy poca elevación de las transaminasas y sintomatología leve. Sin embargo, puede haber casos clínicos y bioquímicamente severos, que no pueden distinguirse de las hepatitis agudas tipo A o B. Otra característica muy importante es la propensión de la hepatitis NoA-NoB, a convertirse en una enfermedad crónica del hígado, ya que se ha demostrado que el 50% o más de los pacientes tienen valores elevados de transaminasas después de un año, y sus biopsias revelan características histológicas de hepatitis crónica activa, y aproximadamente 10% cirrosis. A pesar de estos cambios histológicos, el progreso de una hepatitis NoA-NoB a una enfermedad crónica se considera leve.

Por otro lado, estudios sobre la transmisión de estos agentes, realizados en chimpancés, ponen de manifiesto dos características importantes, primero que el agente NoA-NoB es transmisible además de humano a humano, a chimpancés y que puede existir también un estado de portador, en la que estos pueden tener evidencia de hepatopatía crónica o ser totalmente asintomáticos, y segundo, que el patrón de transmisión parece similar, si no es que idéntico al de la hepatitis B (H.J. Alter, 1980).

BIBLIOGRAFIA

- Aldershville J.: The expression pattern of hepatitis B e antigen and antibody in different ethnic and clinical groups of hepatitis B. Surface antigen carriers. *J. of Infect. Dis.* 142(1):18, (1980).
- Aldershville J. et.al.: Hepatitis B e antigen and antibody measured by radioimmunoassay in acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis. *J. of Infect. Dis.* 141(3):293, (1980).

- Appleton Hazel : Hepatitis transmission in marmosets. *J. of Infect. Dis.* 132(5): 500 (1975).
- Alter, H.J.: The dominant role of nonA nonB in the pathogenesis of post transfusion hepatitis: a clinical assesment. *Clinics in Gastroenterology* 9(1) : 155, (1980).
- Bamber M. et.al.: Ultrastructural features in Chronic non-A, non-B (NANB) hepatitis: a controlled blind study. *J. of Med.Virol.* 8: 267-275, (1981).
- Barker L.F. et.al.: Hepatitis B virus infection in chimpanzees. *J. of Infect. Dis.* 132 (4): 451, (1975).
- Cappel R., F. de Cuyper : Early diagnosis of hepatitis B by Dane particles associated DNA polymerase assay. *J.Gen.Virol.* 36:217, (1977).
- Coulepis A.G.: Detection of hepatitis A virus in the feces of patients with naturally acquired infections. *J. of Inf. Dis.* 141(2): 157, (1980).
- Diestang J.L.: Viral hepatitis type A: Virology and course. *Clin. Gastroenterology* 9(1): 135, (1980).
- Deinhardt F.: Predictive Value of markers of hepatitis virus infection. *J. of Infect. Dis.* 141(3): 299, (1980).
- Edinan J.C. et.al.: Integration of hepatitis B virus sequences and their expression in a human hepatoma cell. *Nature* 286:535, (1980).
- Fleming B. et.al.: A solid phase RIA for detection of IgM antibodies to hepatitis A virus. *J. Inf. Dis.* 140(2): 169, (1979).
- Grady G.F. : Hepatitis B antibody in conventional gamma globulin. *J. of Inf. Dis.* 132(4) : 474, (1975).
- Gerlich W.H. : Diagnosis of acute and inapparent hepatitis B virus infections by measurement of IgM antibody to hepatitis B core antigen. *J. of Infect.Dis.* 142(1) : 95, (1980).
- Hadziyannis S.J.: Hepatocellular carcinoma and type B hepatitis. *Clin. Gastroenterology.* 9(1): 117, (1980).
- Jenkis P.J. : Fulminant viral hepatitis . *Clin. Gastroenterology.* 9(1):171, (1980).

- McAuliffe V.J. et.al.: Type B hepatitis : a review of current prospects for safe and effective vaccine. *Reviews of Inf. Dis.* 2(3): 470, (1980).
- McCollum R.W. and A.J.Zuckerman : Viral hepatitis :Report on a WHO informal consultation. *J. of Med. Virol.* 8(1):1 , (1981).
- McFarlane E.S. and J.A. Embel: Prevalence of antibodies to hepatitis A antigen sera from patients with haematological malignances. *J. of Med. Virol.* 8(1): 49, (1981).
- Robinson W.S. : Viruses of human hepatitis A and B. *Comprehensive Virology.* Vol. 14 pp. 471-527 . Fraenkel-Conrat. Plenum Press, New York, 1979.
- Scott R.M. et.al.: Experimental transmission of hepatitis B virus by semen and saliva. *J. Inf. Dis.* 142(1): 67, (1980).
- Szmuness W.: Hepatocellular carcinoma and the hepatitis B virus: Evidence - for a causal association. *Prog. Med. Virol.* 24: 40, (1978).
- Tabor E. et.al.: Hepatitis B e antigen in the absence of hepatitis B surface antigen. *J.Infect. Dis.* 141(3) :289, (1980).
- Trepe C. L. Vitvitski and O. Hants.: Non-A, Non-B hepatitis virus: Identification of a core antigen-antibody system that cross reacts with hepatitis B core antigen and antibody. *J. of Med. Virol.* 8(1) :31, (1981).
- Zuckerman A.J.: Vaccination against hepatitis B. *Lancet* i(7974): 1391, (1976).
- Zuckerman A.J.: Hepatitis B vaccines. *Lancet* i(7994): 1396, (1976).
- Zuckerman A.J.: Prophylaxis of hepatitis type B: Immunoglobulins and vaccines. *Clin. Gastroenterology.* 9(1): 65, (1980).
- Zuckerman A.J.: Los tres tipos de hepatitis vírica humana. *Bol. de la Oficina Sanit. Panamericana.* 89(1) , (1980).