

# Influenza humana: A(H1N1).

## Nota de actualidad

**Palabras clave:** Influenza humana, virus de la influenza A(H1N1), pandemia de influenza.

**Key words:** Human influenza, influenza A(H1N1) virus, influenza pandemic.

Recibido: 31/07/2009  
Aceptado: 31/07/2009

Gustavo Barriga Angulo\*

\* Laboratorio Clínico, Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional «La Raza», Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia:  
Gustavo Barriga Angulo  
Laboratorio Clínico. Circuito Interior s/n y Seris.  
Col. La Raza, 02900 México, D.F.  
Tel: 57245900.Ext-23925.  
E-mail: gustavo.barriga@imss.gov.mx

### RESUMEN

La globalización y el cambio climáticos de las últimas décadas han dado lugar a la emergencia y reemergencia de numerosos agentes infecciosos. La pandemia actual por el virus de la influenza A(H1N1), iniciada en nuestro país, ilustra dramáticamente este fenómeno. El agente etiológico es el producto de una triple recombinación genética de los virus de la influenza humana, porcina y aviaria. Un número sustancial de casos han requerido de hospitalización o han fallecido. Su diagnóstico y tratamiento son de primordial importancia ya que los medicamentos antivirales son efectivos cuando se administran en las primeras 48 horas de evolución. En esta revisión se señalan las pruebas de laboratorio actualmente disponibles, sus ventajas y desventajas, las muestras requeridas, y las medidas de precaución para evitar su transmisión al personal del laboratorio encargado de obtener y procesar las muestras para su diagnóstico.

### SUMMARY

The globalization and climate change in recent decades have led to the emergence and reemergence of many infectious agents. The current pandemic caused by A(H1N1) influenza virus, which began in our country, dramatically illustrates this phenomenon. The etiologic agent is the product of a triple genetic recombination of human, avian and swine influenza virus. A substantial number of cases have required hospitalization or died. Its diagnosis and treatment are of paramount importance because antiviral drugs are effective when they are administered within the first 48 hours of evolution. This review outlines the currently available laboratory tests, their advantages and disadvantages, the samples required, and the precautionary measures to prevent transmission to laboratory personnel responsible for obtaining and processing the samples for diagnosis.

77

### Introducción

Hasta hace sólo unas décadas, los avances en la terapéutica antimicrobiana, el desarrollo de vacunas y de los servicios de salud pública, hacían pensar que el control de las enfermedades infecciosas estaba cerca. Sin embargo,

la globalización de la economía fue el detonante de numerosos fenómenos, como la globalización en el procesamiento, distribución y almacenamiento de alimentos, un mayor movimiento turístico y comercial, la alteración de los hábitats naturales debido a la urbanización de áreas rurales, el hacinamiento en grandes ciudades, la deforestación,

el desarrollo de grandes obras de irrigación y los cambios climáticos, y movimientos de población por guerras, desastres naturales, y migración han propiciado un mayor contacto entre humanos y reservorios de agentes infecciosos hasta el momento desconocidos, al igual que los cambios en los hábitos de conducta, como la drogadicción y la promiscuidad sexual, dando lugar a la emergencia y reemergencia de diversas enfermedades en las últimas tres décadas.<sup>1</sup>

El reciente brote de influenza ocasionado por un virus de características particulares en nuestro país ilustra dramáticamente este fenómeno, al grado de que posiblemente se convierta en la primera pandemia del siglo XXI, además del grave daño en términos económicos para México y la paralización de sus actividades educativas y sociales, sin dejar de mencionar las pérdidas en vidas humanas. En este breve reporte nos referiremos al estado actual del problema, así como a algunos aspectos de interés para el patólogo clínico.

78

## Influenza humana A(H1N1)

A mediados del mes de marzo y en las primeras semanas del mes de abril, se empezaron a identificar casos de infección con un virus de influenza A no tipificable en nuestro país y en el Sur de California (EUA).<sup>2</sup> Aunque la secuencia de eventos y el origen del brote es aún incierto, para la tercera semana del mes de abril se había podido establecer que el agente etiológico<sup>3-5</sup> era el producto de una triple recombinación genética de los virus de la influenza humana, porcina y aviaria (H1N1) y para el 31 de julio se habían notificado oficialmente 134,503 casos en todo el mundo con 816 defunciones. De los 16,442 casos confirmados en nuestro país hasta el 31 de julio la mayor parte corresponde a Chiapas, Yucatán, Distrito Federal, Jalisco, Tabasco, Veracruz y Guerrero. De ellos, corresponden 50% al sexo femenino y 50% al masculino, con 69.9% al grupo de 20 a 54 años de edad.

La sintomatología más frecuente en los 146 pacientes fallecidos fueron: fiebre en 84.9%, tos en 84.2%, insuficiencia respiratoria 76%, expectoración 53.4% y ataque al estado general 47.9%

Aunque la enfermedad asociada a la infección en general parece ser autolimitada y no complicada, en nuestro país han sido reportados un número sustancial de casos con enfermedad severa que requirieron hospitalización y fallecieron 146, sobre todo niños y adultos previamente sanos.

Las pandemias de influenza, definidas como brotes globales de la enfermedad, debidas a nuevos subtipos antigénicos del virus han ocasionado elevadas tasas de mortalidad en humanos. La más devastadora, denominada como «Influenza española», de 1918 a 1920 causó entre 50 y 100 millones de muertes y enfermó a una tercera parte de la población mundial. Otras epidemias menos catastróficas se presentaron en 1957: Influenza asiática, 1968: Influenza de Hong-Kong, y 1977 influenza rusa. Las últimas pandemias han sido causadas por virus híbridos o recombinantes que albergan una combinación de genes virales aviarios y humanos. El análisis filogenético de una amplia variedad de virus de la influenza en diversos huéspedes y regiones geográficas muestran que han evolucionado en siete linajes específicos de hospederos: Dos en caballos (equino antiguo 1; equino 2 reciente.); uno en gaviotas; uno en pájaros norteamericanos; uno en aves euroasiáticas; uno en cerdos y uno en humanos.

Cuando un virus originado en una especie animal entra en una especie diferente de hospedero, sufre una rápida evolución, pudiéndose inducir técnicamente 256 diferentes combinaciones de ácidos nucleicos, por el entrecruzamiento de los ocho diferentes segmentos genómicos del virus.<sup>7</sup>

La influenza porcina fue propuesta por primera vez como una enfermedad relacionada a la influenza humana durante la pandemia de 1918 en la que los cerdos se enfermaron al mismo tiempo que los humanos. La primera evidencia de que un virus de influenza causaba enfermedad en cerdos

ocurrió en 1930. En los siguientes 60 años, las cepas de influenza porcina sufrieron pocos cambios y pertenecieron casi exclusivamente al tipo H1N1. Sin embargo, a finales de la década de los años 90, habían emergido múltiples cepas y subtipos (H3N2, H1N2, H4N6), los cuales incluían genes derivados de recombinaciones de genes virales humanos, de cerdos y aves, viniendo a ser la principal causa de influenza porcina en Norteamérica. Los virus clásicos de influenza porcina son enzoóticos entre cerdos en Norteamérica, habiéndose reportado esporádicamente brotes en humanos en los Estados Unidos desde los años 70. A nivel mundial, se han registrado más de 50 casos de infección con el virus de la influenza porcina en humanos en los últimos 35 años. Estudios serológicos sugieren que la exposición ocupacional a cerdos tiene el mayor riesgo de infección. Hasta antes de marzo de 2009 se había reportado sólo una limitada y no sostenida transmisión interhumana del virus de la influenza porcina.

Hasta el momento, la cepa causante de este brote representa una recombinación de por lo menos cuatro cepas del virus de la influenza A subtipo H1N1, incluyendo una cepa endémica en humanos, una endémica en aves y dos endémicas en cerdos.<sup>8-11</sup>

## **Diagnóstico por laboratorio de la infección con los virus de la influenza humana**

El diagnóstico y el tratamiento de las infecciones con los virus de la influenza son de primordial importancia, sobre todo en presencia de brotes epidémicos. Los medicamentos antivirales son efectivos cuando se administran dentro de las primeras 48 horas de evolución de la sintomatología. Afortunadamente, se dispone de numerosas pruebas de laboratorio con diversas características y que utilizadas de manera secuencial y complementaria pueden ser la solución para el manejo de estos problemas (cuadro I).<sup>12</sup>

## **Obtención de muestras para estudio**

Idealmente, las muestras de mayor utilidad para cualquiera de las pruebas disponibles son aquellas que permiten obtener la mayor cantidad de contenido celular como son: lavado o aspirado nasal, expectoración, hisopado nasofaríngeo y biopsias de tejidos. Se deberán de obtener tempranamente dentro de los primeros cuatro o cinco días del inicio de la sintomatología y antes de empezar el tratamiento antiviral específico. En general, se recomienda no utilizar hisopos de madera ni puntas de algodón o alginato de calcio. Las muestras pueden conservarse a 2-4 °C (cuatro días), o congeladas a -70 °C.<sup>13</sup>

## **Aislamiento viral**

Se le considera como el estándar de oro de las pruebas para el diagnóstico de las infecciones por los virus de la influenza, de primordial importancia para obtener información específica acerca de las cepas circulantes en una comunidad, la emergencia de nuevos subtipos y la presencia de resistencia a los antivirales. Su sensibilidad y especificidad son mayores a 99%. Tiene el inconveniente del tiempo necesario requerido para obtener un resultado positivo (tres a 10 días), su complejidad técnica y la necesidad de equipos, áreas especiales, personal altamente capacitado, medidas de bioseguridad y elevado costo.<sup>14</sup>

## **Determinación de antígenos**

La determinación de antígenos virales puede llevarse a cabo a través de pruebas de inmunofluorescencia directa y por técnicas inmunoenzimáticas.

**Inmunofluorescencia directa.** Esta prueba utiliza anticuerpos monoclonales antígeno-específicos marcados con fluoresceína para la detección e identificación rápida de virus respiratorios en general y para los de la influenza en forma par-

**Cuadro I.** Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de influenza

Procedimiento	Tiempo realización	Sensibilidad %	Especificidad %	Ventajas	Desventajas
Aislamiento viral (cultivo)	3-10 días	99	99	<ul style="list-style-type: none"><li>• Estándar de oro permite determinar subtipos y resistencia antiviral</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tiempo requerido para resultado</li><li>• Costo elevado</li><li>• Complejidad técnica</li></ul>
Reacción en cadena de polimerasa (RTP-CR)	24-48 h	$\geq 1 \log_{10}$ que el cultivo	99	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mayor sensibilidad de todas las técnicas disponibles</li><li>• Permite determinar resistencia antiviral</li><li>• Resultados en menos tiempo que el cultivo</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Requiere de personal, equipo e instalaciones especiales</li><li>• Falsas positivas por contaminación cruzada</li><li>• Falsas negativas por muestra inadecuada</li></ul>
Determinación de antígenos inmunofluorescencia directa	6-8 h	70-95	> 90	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mayor sensibilidad que las pruebas rápidas</li><li>• Detecta otros virus respiratorios</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Requiere de microscopio de fluorescencia</li><li>• Personal altamente calificado</li></ul>
Inmunoenzimáticas (Rápidas)	10-30 minutos	59-93	76-100	<ul style="list-style-type: none"><li>• No requiere de laboratorio ni de personal especializado</li><li>• Corto tiempo realización</li><li>• Fácil realización</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Baja sensibilidad y especificidad</li><li>• Sólo detecta virus A y B</li><li>• Falsas positivas</li><li>• Falsas negativas</li></ul>
Determinación de anticuerpos	2-6 h	80-90	90	<ul style="list-style-type: none"><li>• Fácil realización</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Requiere confirmación</li><li>• Sólo de utilidad epidemiológica</li></ul>

ticular. Su sensibilidad y especificidad son mayores que las de las pruebas inmunoenzimáticas (rápidas). Su principal desventaja es la de requerir microscopio de fluorescencia y de personal capacitado para su realización.

**Pruebas inmunoenzimáticas (rápidas).** Existen numerosas pruebas en el mercado para el diagnóstico rápido de las infecciones por virus de la influenza. Tienen la ventaja de no requerir de instalaciones de laboratorio, equipo ni personal de laboratorio para su realización y del corto tiempo requerido para obtener el resultado (10-30 minutos), lo que las hace adecuadas para su aplicación en contingencias epidemiológicas; sin embargo, muestran sensibilidades (50-70%) y especificidades (90-92%) muy bajas cuando se les compara con el cultivo celular o la

reacción en cadena de la polimerasa, y todos los resultados tanto negativos como positivos deben de ser confirmados por pruebas más sensibles y específicas.<sup>15,16</sup>

## Reacción en cadena de la polimerasa

Para la realización de esta prueba deberán de utilizarse los protocolos específicos del Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Georgia (EUA) y de la Organización Mundial de la Salud con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real para influenza porcina A(H1N1). La prueba incluye un panel de primers de oligonucleótidos y sondas marcadas doblemente (Taqman) para la detección y caracterización *in*

vitro de los virus de la influenza porcina en muestras respiratorias y cultivos celulares. El primer grupo de sondas y primers está diseñado para detectar a todos los virus de la influenza, el segundo grupo para detectar al virus de la influenza porcina H1.

Las principales ventajas de esta técnica es que es más sensible (1 log10) y más rápida (24-48 horas) que el cultivo y permite determinar la resistencia a antivirales. Sus desventajas son la de requerir de instalaciones, personal y equipo altamente especializados para su realización, y pueden ocurrir resultados falsos positivos y negativos.<sup>17</sup>

## Determinación de anticuerpos

El diagnóstico serológico de la infección con los virus de influenza puede ser de utilidad siempre y cuando se realicen pruebas con muestras de fase aguda y de convalecencia que muestren una elevación mínima de cuatro títulos entre una y otra, o bien se disponga de pruebas de anticuerpos de tipo IgM. Para este propósito se dispone de numerosa variedad de pruebas como ELISA, neutralización, fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta, inhibición de hemaglutinación, etcétera. Sin embargo, en general, su utilidad es más de tipo epidemiológica.<sup>18</sup>

## Precauciones para el personal del laboratorio

Tanto en la obtención de muestras diversas en pacientes externos u hospitalizados con infección respiratoria y en casos probables o confirmados de influenza, como en el procesamiento de muestras de origen respiratorio o en procedimientos susceptibles de generar aerosoles dentro del laboratorio, es obligatorio que el personal utilice equipo protector, el cual deberá de ser desechable y no ser reutilizado, con excepción de los len-

tes protectores que pueden desinfectarse. El equipo protector consiste básicamente en: mascarilla del tipo N95, guantes, bata y lentes, los cuales deberán desecharse al término de la toma de las muestras y de los procesos de laboratorio. Todas las muestras de origen respiratorio deberán de procesarse en cabina de bioseguridad del tipo BSL2. Cualquier trabajador con sintomatología sugestiva de infección respiratoria aguda deberá ser evaluado clínicamente y realizarse la prueba rápida de influenza; en caso necesario, deberá considerarse la administración de tratamiento profiláctico para influenza.<sup>19,20</sup>

## Referencias

1. Barriga AG. La globalización de las enfermedades infecciosas. Editorial. Rev Med IMSS 2003; 41 (5): 369-371.
2. MMWR CDC. Update: Novel influenza A(H1N1) virus infections. Worldwide. MMWR 2009; 58 (17): 453-458.
3. MMWR CDC Outbreak of swine origin influenza A(H1N1) virus infection. México, MMWR 2009; 58 (17): 467-470.
4. Belshe RB. Implications of the emergence of a novel H1 influenza virus. New Engl J Med 2009; 10: 1056.
5. Belshe RB. The origins of pandemic influenza. Lessons from the 1918 virus. New Engl J Med 2005; 353: 2209-2211.
6. www.salud.gob.mx. Información Influenza. Situación actual de la epidemia, 20 de Mayo de 2009. Secretaría de Salud.
7. Webster RG. Influenza virus: Transmission between species and relevance to emergence on the next human pandemic. Arch Virol 1997; 142 (suppl 13): 105-113.
8. Schoenbaum SC, McNeil BJ, Kavet J. The swine influenza decision. New Engl J Med 1976; 295 (14): 759-765.
9. Collaborative Team Influenza. Novel swine-origin influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. New Engl J Med 2009; 360: 2605-2615.
10. Miller MA, Viboud C, Balinska M, Simonsen L. The signature of influenza pandemics-implications for policy. New Engl J Med 2009; 10: 1056.
11. Brownstein JS, Freifeld CS, Madoff M. Influenza A (H1N1) Virus, 2009-Online Monitoring 2009; 10: 1056.
12. Boonner AB, Monroe KW, Talley LI, Klasner AE, Kimberlin DW. Impact of rapid diagnosis of influenza on physician decision making and patient management. Pediatrics 2003; 112 (2): 363-367.
13. Hurt A. R. Lamb A.C.A. Comparison of a rapid test for influenza with laboratory based diagnosis in a pediatric population. Commun. Dis. Intell, 2005; 29 (3) 272-276.
14. Uyeki TM, Prasad R, Vukotich Ch, Stabbins S, Rinaldo ChR, Feng Y, Morse S, et al. Low sensitivity of rapid diagnostic test for influenza. CID 2009; 48: 89-92.
15. World Health Organization (WHO) Recommendations on the use of a rapid testing for influenza diagnosis 2005 p. 1-16.
16. James MA. Rapid test kits for influenza OHL: Hygienic Laboratory. University of Iowa 1999; 38 (5): 3-4.

17. Reven M, Gooseens H. Relevance of nucleic acid amplification techniques for the diagnosis of respiratory tract infections in the clinical laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10 (2): 242-256.
18. WHO/CDC. Protocol for realtime RTPCR for swine influenza A(H1N1). 2009; 1-007-05: 1-8.

19. NCCLS. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections: Approved Guideline 2001. 2nd ed. M-29-A2.21, 23.
20. OSHA. Influenza preparedness and response guidance for health-care workers and healthcare employers. 2007 OSHA, 3228-3235.



## XVIII Congreso Nacional de Parasitología CONAPAR 2009

Del 21 al 26 de Septiembre  
Aguascalientes, Aguascalientes

Temática:  
Protozoarios, helmintos y  
artrópodos vectores

Áreas:  
Todas las áreas relacionadas  
a la Parasitología

Fecha límite para envío  
de resúmenes

30-Abril-2009

[www.socmexpar.org](http://www.socmexpar.org)

Contacto:  
[conapar2009@yahoo.com.mx](mailto:conapar2009@yahoo.com.mx)

