

ARTÍCULO

LA INFLUENZA EN MEDICINA VETERINARIA

Dr. José Iván Sánchez Betancourt

Dr. Francisco José Trigo Tavera

Resumen

Los virus de influenza se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, afectando tanto a diversas especies animal como al hombre. Estos virus presentan una sorprendente capacidad de evolucionar, ya que utilizan los procesos de recombinación de sus genes con otros virus, así como de mutar, a través de pequeños cambios en su ARN. En este capítulo se presenta una revisión general de los virus de influenza en medicina veterinaria, incluyendo aspectos de diagnóstico tanto tradicional como pruebas moleculares de aislamiento y tipificación de virus, diagnóstico postmortem en animales afectados, y finalmente una revisión de los tipos de vacunas existentes para prevenir la enfermedad de los animales.

Palabras clave: Virus de Influenza, Hemaglutinina, Neuraminidasa, Subtipos, animales

Summary

Influenza viruses are widely distributed in nature, affecting different animal species and man. These viruses show a surprising capacity to evolve, since they use the process of recombination of their genes with other viruses, as well as the mutation process through minor changes in their RNA. In this chapter a general review of influenza viruses in veterinary medicine is presented, including aspects of traditional and molecular diagnosis, of isolation and tipification of the virus, postmortem diagnosis in affected animals; and finally a review of the existing vaccines to prevent the disease in animals is presented.

Key words: Influenza Virus, Haemmagglutinina, Neuraminidase, Subtypes, animals

Introducción

La presentación de las pandemias por los virus de influenza tipo A son un riesgo latente a nivel mundial y generan una gran preocupación en la población y las autoridades de salud, debido a que se desconoce el impacto que puedan causar y su agresividad, ya que la enfermedad se puede presentar a través de uno de los 144 subtipos virales de influenza tipo A. Además es importante considerar que cada especie puede ser afectada por uno o varios subtipos virales, pero también un mismo subtipo viral, con algunas diferencias en sus genes, puede ser capaz de infectar a otra especie.

Lo anterior es trascendente, debido a que la influenza es una enfermedad altamente contagiosa, de rápida diseminación en poblaciones susceptibles, es decir, que nunca han tenido contacto con ese subtipo viral de influenza, así como en aquellas en las que hay sobrepoblación, tanto en humanos como en animales.

Recientemente, una cepa de influenza equina infectó a perros. Esta cepa de influenza equina se ha visto únicamente en unos cuantos estados de los Estados Unidos y casi exclusivamente se ha asociado con las pistas de carreras de perros y los refugios de animales, donde se congrega un gran número de animales que mantienen un contacto cercano.

Antecedentes en la medicina veterinaria

La Influenza es una enfermedad infecciosa aguda, causada por algunos influenzavirus del grupo A de la familia Orthomyxoviridae, que se manifiesta principalmente en animales de granja como cerdos, gallinas y pavos. También se puede presentar en otras aves domésticas de corral y, raramente, en aves silvestres en cautiverio o en libertad. Los caballos y otros mamíferos también pueden presentar signos de la

enfermedad. Ésta puede manifestarse clínicamente de dos maneras:

- 1) Un cuadro respiratorio caracterizado por estornudo, secreción nasal y ocular, causado por cepas de baja patogenicidad.
- 2) Un malestar general en el que se observa depresión, fiebre, dificultad respiratoria, líquido en la piel y muerte, causado por cepas de alta patogenicidad.

La presentación diferente de la enfermedad en ambos cuadros clínicos, se debe a las características de dos proteínas localizadas en la superficie del virus: la hemoaglutinina, que se abrevia con la letra H, responsable de infectar a la célula, y la neuraminidasa, representada con la letra N, responsable de la salida del virus a partir de una célula infectada.

Los influenzavirus del grupo A pueden tener distinta H y N, pero en conjunto determinan un subtipo de virus y su especificidad para infectar exitosamente a una especie animal. En el mundo se ha reportado la existencia de 16 tipos de H y 9 de N, lo que en teoría significa la existencia de 144 subtipos diferentes, pero en la práctica sólo se han encontrado poco más de 100 subtipos en el mundo. La mayoría de estos diferentes subtipos de virus causan un cuadro subclínico o clínico respiratorio de leve a moderado. La excepción dentro de estos virus está dada en aquellos que tienen una H5, H7 y H9, que pueden presentar cuadros clínicos de baja y alta patogenicidad.

Diagnóstico imprescindible

Para diagnosticar la enfermedad en un animal, es necesario reunir diferentes evidencias para llegar a un diagnóstico integral. El primer paso en las pruebas de diagnóstico es recolectar muestras clínicas del animal que se sospecha infectado, a partir de los sitios de su anatomía donde se encuentra el virus. En este caso se recolecta la secreción oral, nasal, traqueal y rectal o cloaca, por medio de hisopos.

El hisopo con la muestra de fluido corporal es ingresado al laboratorio para realizar distintas pruebas o técnicas. La muestra por sí misma presenta varias características, como la presencia de partículas virales activas o inactivas, en una cantidad y proporción desconocidas.

Para llegar al diagnóstico en pocas horas, el virus presente (activo o inactivo) en el hisopo es transferido a una tira de papel, donde es detectado a través de anticuerpos dirigidos hacia la proteína de la nucleoproteína, que evidencia que el virus pertenece al género influenzavirus del grupo A. Esta técnica sólo es positiva si tenemos suficientes partículas virales que oscilan entre 10³ y 10⁴ D₅₀/ml.

Si queremos saber qué subtipo de influenzavirus A está presente en la muestra positiva o confirmar que la muestra es negativa, entonces se recurre a la detección de los genes virales por pruebas moleculares.

Métodos de identificación del subtipo viral

A partir de la muestra recolectada por el hisopo, se puede caracterizar el virus por técnicas moleculares. Lo anterior se logra a través de la detección del gen matriz, que determina que es un influenzavirus y, posteriormente, se caracteriza el gen de la H y la N. Este método es conocido como: transcripción reversa –reacción en cadena de la polimerasa o RT-PCR, por sus siglas en inglés.

Para determinar si el subtipo del virus identificado por pruebas moleculares es de alta o baja patogenicidad, es necesario enviar el producto de la RT-PCR a un análisis genético para conocer la secuencia de nucleótidos y, a partir de ello, determinar la secuencia de aminoácidos de la H, que en la mayoría de las ocasiones los virus de alta patogenicidad son los que tienen la hemoaglutinina 5 (H5).

Transmisión interespecies

4 - XX

Los cerdos son muy susceptibles a algunos tipos de influenza A y a algunas cepas que circulan principalmente entre humanos y aves. También es probable que los cerdos se muestren sin presentar enfermedad. El hecho de que los cerdos se puedan infectar con algunas cepas humanas y aviares, se debe a la presencia de uniones 2,3- y 2,6- galactosa en el ácido siálico de las membranas de las células del epitelio traqueal del cerdo, que puede conducir a la selección y la modificación de las especificidades por el receptor de los virus Influenza de las aves con afinidad por el receptor 2,3-galactosa, cambiando la afinidad por la del receptor 2,6-galactosa, que es el habitual en las células humanas. Así, se proporciona una unión potencial adaptativa entre los virus de las aves y los de las personas. Sin embargo, tenemos que reconocer que esta capacidad de sus receptores celulares no implica que los nuevos virus surjan de esta especie. Por el contrario, la pandemia de 1918 fue ocasionada por el virus de influenza A humano, que se logró aislar en el cerdo hasta 1930. Esta situación se presentó nuevamente en 2009, cuando se detectó un nuevo virus en el municipio de "La Gloria", Veracruz, y meses después se identificó en otros países en cerdos infectados experimentalmente. El proceso de inoculación experimental en especies susceptibles, pero sin reporte previo de la enfermedad, genera que la evolución viral se acelere y se recombine, se adapte e infecte a nuevas especies con menor o mayor grado de virulencia.

La capacidad de los virus de influenza, de traspasar la barrera de especie, está controlada por una constelación de genes virales. Para que tenga lugar la transmisión con éxito entre especies, es necesario que exista una recombinación genética, con una progenie de virus, que contenga una constelación de genes, que pueda replicarse en un nuevo hospedador. Los virus recombinantes con otra constelación de genes, pueden tener una capacidad adaptativa disminuida, que no les permite perpetuarse en un nuevo hospedador o viceversa, como se menciona en el párrafo anterior.

Algunos sugieren que el gen de la nucleocápside (NP) es el determinante de la especificidad de hospedador, el cual puede restringir o atenuar la replicación viral, y con ello el éxito de la transmisión del virus a un nuevo hospedador. Esta tesis admite que el cerdo es "frasco de unión" de las cepas de origen aviar y humano, donde tendría lugar la recombinación genética para generar una nueva cepa de fácil transmisión interhumana.

Existen reportes de aislamientos de virus de influenza A, provenientes de una gran variedad de mamíferos silvestres, particularmente de marinos como focas y ballenas.

Aislamiento del virus

Cuando nuestra necesidad es aislar el virus para la generación de vacunas; es necesario procesar muestras de hisopo nasal o pulmonar de animales sospechosos de la enfermedad. Esta detección y aislamiento viral se puede realizar en cultivo celular y embriones de pollo, lo cual requiere de tres a siete días.

Cómo detectar la influenza en los animales

Cuando los animales presentan una enfermedad respiratoria y queremos saber si tuvieron la enfermedad de influenza, se realiza la técnica de inhibición de la aglutinación de los glóbulos rojos (IHA). Esta técnica está basada en la capacidad del virus para aglutinar glóbulos rojos, también conocida con el nombre de hemoaglutinación (HA), que consiste en lo siguiente: si hay anticuerpos generados por la infección previa del virus, éstos van a inhibir la característica de hemoaglutinación del virus con un anticuerpo dirigido a la hemaglutinina, que es la proteína que se encuentra en la superficie del virus.

Es posible recolectar muestras de fluidos corporales, a través de hisopo, a partir de las tres primeras horas de muerte, utilizando las técnicas arriba mencionadas.

Si los animales mueren por un problema respiratorio parecido a influenza, es necesario realizar la

necropsia.

La observación de las lesiones en órganos y tejidos de un animal muerto, debe realizarse en las primeras seis horas post mortem con un cadáver mantenido en refrigeración, con el objetivo de tener un detalle claro de las lesiones causadas por el virus, para la apropiada selección y colecta de muestras de tejido. Las lesiones observadas en virus de baja patogenicidad pueden ser una inflamación serosa o mucosa del aparato respiratorio, que no se distinguen de otras infecciones virales respiratorias. Por el contrario, los virus de alta patogenicidad evidencian lesiones evidentes, pero no concluyentes, como son la presencia de inflamación con hemorragias, necrosis y edema en órganos respiratorios, digestivos, linfoides, genito-uritarios y sistemas como el tegumentario y cardiovascular.

En ambos casos es necesario evidenciar la presencia del virus. Para ello se recolectan muestras de tejido para ser procesadas para: a) Aislamiento del virus y su respectiva caracterización molecular y serológica, y b) Detección in situ por inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, microscopía electrónica y RT-PCR in situ. El uso de las primeras tres pruebas requiere de anticuerpos dirigidos hacia la nucleoproteína del virus; sin embargo, los resultados de las pruebas son suficientemente claras cuando se busca localizar virus de alta patogenicidad. El uso de RT-PCR in situ no es ampliamente utilizado en el diagnóstico regular por el fraccionamiento del ARN viral durante el proceso de fijación de los tejidos o cambios autolíticos.

Control de la enfermedad

No existe un tratamiento para los animales enfermos; aun así, la medida a tomar consiste generalmente en atención con antibióticos para disminuir las infecciones secundarias (generadas por bacterias) así como limpieza y desinfección de los corrales incluyendo la disminución del hacinamiento. La enfermedad normalmente cursa todas sus etapas en una semana o dos. Los medicamentos antivirales no se usan para tratar las infecciones de influenza en animales. A excepción de caballos, cerdos y aves, no existen comercialmente vacunas disponibles para otros animales.

Los procedimientos higiénicos y sanitarios son la primera defensa para disminuir y controlar la presencia del virus, sin embargo, la complejidad en la movilización de los animales a nivel local, regional y global, no garantizan una erradicación permanente del virus. Es por ello que la inmunización ha sido un procedimiento importante dentro de la bioseguridad de las granjas o centros de actividad ecuestre para controlar brotes de la enfermedad, cuando se conoce que hay virus circulante.

Las vacunas veterinarias disponibles en la actualidad, tienen su origen en el subtipo que circulan en la población animal de cada especie, los cuales son sometidos a diferentes modificaciones para eliminar su poder patógeno, pero manteniendo su capacidad inmunogénica, tal es el caso de las vacunas contra influenza en aves, equinos y cerdos, las cuales en su inicio todas han sido generadas en embrión de pollo para posteriormente ser inactivadas e inoculadas en forma de vacuna.

Las vacunas ampliamente utilizadas para el control de la influenza son las vacunas inactivadas, las cuales se componen de virus inactivados térmicamente o químicamente, que pueden ser utilizados en forma completa, fracciones o subunidades de los mismos. Estos virus no se replican y por ello no causan o transmiten la enfermedad, lo que las hace más seguras y de fácil fabricación, pero con menor capacidad para estimular el sistema inmunológico.

Por último, es importante considerar que las vacunas veterinarias hacia los virus de influenza están diseñadas para generar respuesta inmune específica hacia cada subtipo viral de acuerdo a la especie afectada; por ejemplo, las vacunas diseñadas para los subtipos H1N1 y H3N2 porcino generan protección únicamente

contra ellos y no hacia variantes humanas o hacia otros subtipos en especies diferentes; recordemos que cada subtipo viral es específico de especie y esto siempre será considerado en el diseño de los productos biológicos, como lo son las vacunas del área veterinaria.

Conclusiones

Los comentarios expuestos demuestran que, en los últimos años, se han presentado hallazgos que no se habían dado previamente, con los cuales debemos concientizarnos para seguir estudiando estos virus. Y resumiendo con las siguientes conclusiones.

La aparición de algunos subtipos de virus Influenza A de origen aviar, no descritos previamente en personas (H5N1, H9N2 y H7N7), es probable que haya sido debido al incremento en la densidad de la población humana, junto a la cría masiva de aves en condiciones de hacinamiento.

La cría conjunta de animales de distintas especies, como pollos, patos y cerdos, puede conducir a la infección de hospedadores no habituales, pero susceptibles y, al mismo tiempo, permitir la coexistencia de virus de subtipos distintos en un mismo hospedador, lo que puede generar virus recombinantes con mayor capacidad para infectar a otras especies.

Los cambios en la estructura de la hemaglutinina de uno de los subtipos (H5N1), le confieren mayor patogenicidad y tropismo celular, por lo que puede afectar a distintos órganos del aparato respiratorio. La imposibilidad de preparar vacunas por los métodos convencionales, al ser altamente patógenos para el embrión de pollo, impide elaborar vacunas con la celeridad deseada.

La velocidad de las comunicaciones puede contribuir a su rápida diseminación, con consecuencias impredecibles, a menos que se avance en la preparación de nuevas vacunas, específicas para estos nuevos subtipos, por métodos distintos a los convencionales.

Estos aspectos, entre otros, son fuente de preocupación por el riesgo de que se desarrolle una pandemia de gripe por un subtipo nuevo de virus de Influenza A. Por otra parte, los cambios genéticos en los virus humanos circulantes, sin que se hayan podido adaptar estas variantes a la preparación de vacunas, pueden hacer que la extensión y la intensidad de las epidemias anuales de gripe sean mayores de lo habitual.

Bibliografía

Kaufman; S (1996): *Concepts in vaccine development*. Ed. Walter de Gruyter, Berlin.

Manual de la OIE (2006): "Laboratorios que fabrican vacunas veterinarias" www.oie/revue. Science B.V.

Mora, M et .al (2003). "Reverse vaccinology [Research focus]" *Drug Discovery Today*, 8:10:459-464.

Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-044-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Influenza Aviar. Diario Oficial publicada el lunes 30 de enero de 2006.

Programa de entrenamiento en Biológicos veterinarios. (2003) Bloque I: Inmunológica Básica y Principias de vacunación OIE-IICAB

Spackman E, Suarez DL, Senn, DA. (2008) "Avian Influenza Diagnostics and Surveillance Methods" In: Swayne DE editor. *Avian Influenza*.

Swayne DE and Halvorson DA (2003). "Influenza". In: Saif YM, Barnes HJ, Glison JR, Fadly AM, McDougald

LR, Swayne DE, editors. *Disease of Poultry*. 11th ed. Iowa: Blackwell Publishing.

Swayne DE and Kapczynski DR.(2008) "Vaccines, Vaccination, and Immunology for Influenza Viruses in Poultry" In: Swayne DE editor. *Avian Influenza*. Blackwell Publishing.

Swayne DE and Kapczynski. (2008)"Strategies and challenges for eliciting immunity avian influenza virus in birds". *Immunological Reviews*; 225:314-331.

Spickler,A.R. ,Roth,J.A.(2003): "Adyuvantes en Vacunas Veterinarias: Modos de Acción y Efectos Adversos" *Vet Intern Med*. 2003 May-Jun; 17(3):273-81.

Veterinary Vaccinology (1997). Edited by Pastored, P.P; Blancou, J; Verschueren, C. Elsevier Science B.V.