

## **VI.- BIOTERRORISMO Y ENFERMEDADES EMERGENTES**

**Editores: Drs. Antonio Tenorio y Pedro Anda**

### **VI.2. Virus y enfermedades víricas emergentes**

Autores: Drs. Ana Isabel Negredo y Antonio Tenorio

Laboratorio de Arbovirus y Enfermedades Víricas Importadas

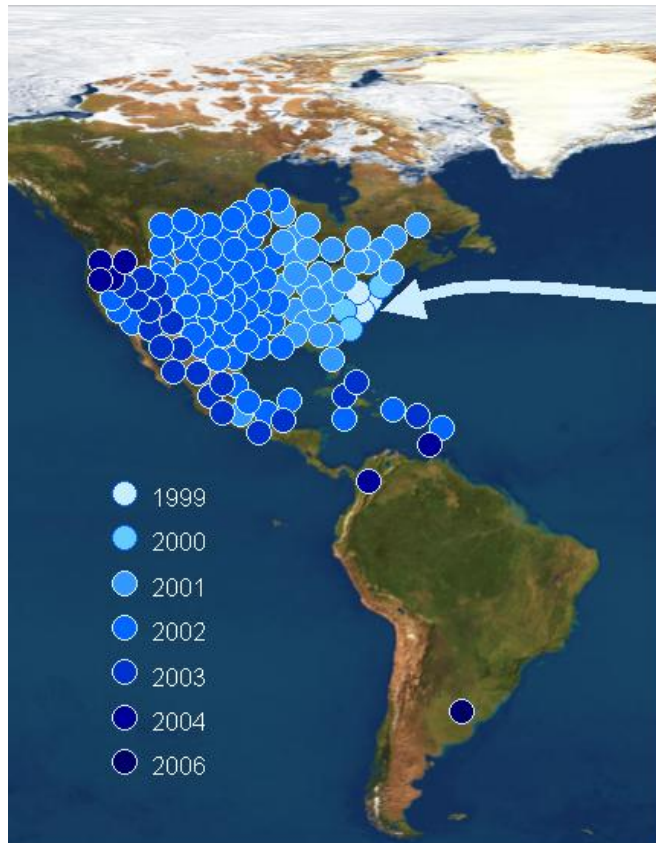
Instituto de Salud Carlos III

La 47 edición de la ICAAC ha atendido también a algunos de los virus emergentes más importantes en los últimos años. Además, se trata de virus que cada vez con más frecuencia pueden sorprendernos en nuestro entorno de manera insospechada. La facilidad y rapidez con la que ahora se producen viajes internacionales e intercambios de mercancías están llevando a un cambio global también en la distribución de las enfermedades infecciosas.

#### ***Virus West Nile: un virus de aves que ha conquistado un nuevo continente.***

No es de extrañar que el principal protagonismo lo haya tenido el virus West Nile [V-1906, V-1905, 2016], un virus del Viejo Mundo que llegó a la ciudad de Nueva York en 1999 asociado a un brote de encefalitis y que desde entonces ha tenido una vertiginosa expansión por el continente americano, aprovechando la previa existencia de vectores competentes (mosquitos *Culex*) y reservorios (aves) eficaces (Figura 1).

La secuenciación del genoma del virus WNV introducido en EEUU permitió afirmar que probablemente procedía de Israel, dada la alta homología con la cepa circulante en aves de ese país en 1999. En esta reunión, Marchaim, D. *et al* presentaron un estudio serológico retrospectivo de pacientes hospitalizados entre 1999-2000 y 2002-2005 en Israel. Los autores encuentran 38 casos de infección reciente en un total de 1197 casos, concentrándose 7 casos en 1999, 28 en 2000 y 3 entre 2002 a 2005. Con esta información, concluyen que el brote epidémico del año 2000 muy probablemente comenzó en Israel también en 1999. **(V-1906-551) Marchaim, D. Sero-Epidemiologic Study of West Nile Virus Disease among Hospitalized Patients in Tel Aviv, 1999-2005, pág 487.**



*FIGURA 1. Expansión geográfica del virus West Nile en América desde su aparición, en 1999. Los puntos indican el primer año de descripción del virus en el área geográfica señalada.*

Aunque se ha especulado mucho sobre la forma en la que el virus entró en Nueva York, parece que actualmente puede descartarse la introducción deliberada (bioterrorismo) y las migraciones naturales de las aves (reservorios principales del virus). No se debe descartar, sin embargo, que esta repentina introducción se produjera por la introducción involuntaria de un ave virémica.

Con un objetivo completamente distinto M. Diamond presentó una comunicación sobre los mecanismos de patogenicidad de WNV para evadir las defensas innatas del hospedador, planteando la estrecha relación que existe entre los elementos de respuesta innata y adaptativa del hospedador para coordinar la protección y evitar una infección grave por este virus **(2016) Diamond, M. West Nile Virus Pathogenesis: A Balance Between Immune Protection and Evasion: pág 516.**

Una vez que se ha establecido el virus en una nueva localización, como ha ocurrido con WNV en EEUU, los sistemas de vigilancia para controlar la diseminación de la infecciones adquieren un papel relevante en el área de la

salud pública, a este respecto y en el caso del WNV se han expuesto una comunicación, Plate, D.K. donde identifican zonas de riesgo de infección en humanos en la ciudad de Chicago localizando zonas de alta actividad del WNV mediante un sistema de vigilancia en mosquitos (V-1905-550) Plate, D.K. **Geographic Information System Mapping of Mosquito Surveillance Data to Provide Early Warning of West Nile Virus Transmission Risk**, pág 487.

### ***Virus Chikungunya, mosquito tigre y migraciones humanas***

Ann Powers revisó ampliamente la actual situación de re-emergencia del virus Chikungunya, un arbovirus que está causando brotes epidémicos de fiebre con artralgias inhabilitantes y prolongadas. Chikungunya, como Dengue y Fiebre Amarilla, utiliza a los primates, incluidos los humanos, como reservorios y produce los brotes más graves en ambientes en los que encuentra grandes concentraciones humanas y de un mosquito *Aedes* competente (*Aedes aegypti* o *Ae. albopictus* en ambientes urbanos).

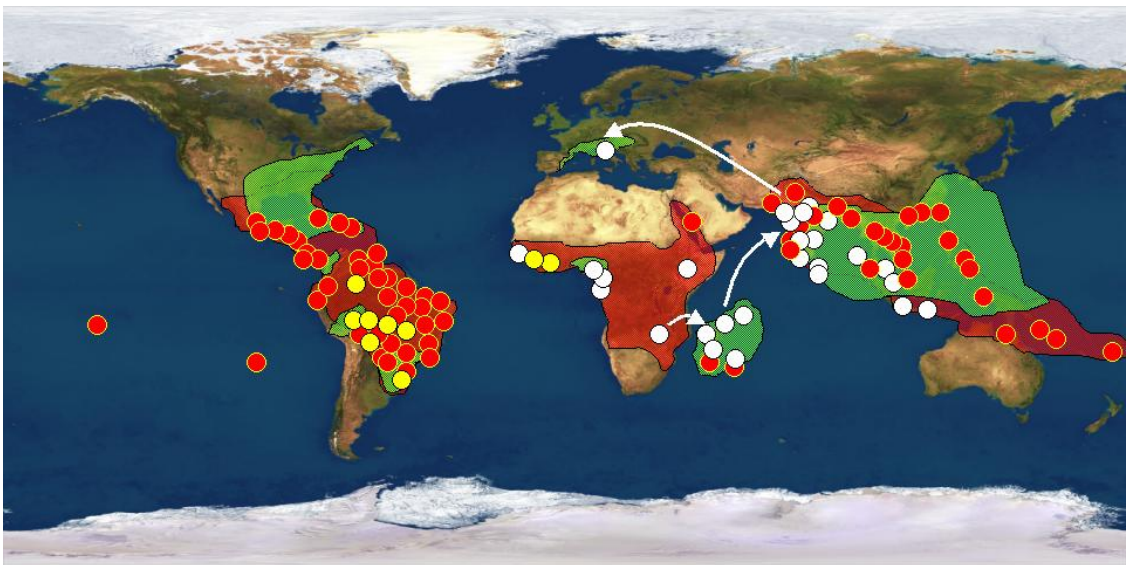


FIGURA 2. Mapa de distribución de las principales arbovirosis “humanas”. Los puntos señalan los brotes informados a PROMED desde 2006: Dengue (rojo), Fiebre Amarilla (amarillo) y Chikungunya (blanco). Las áreas sombreadas señalan la presencia de sus principales vectores, *Aedes aegypti* (en rojo) y *Aedes albopictus* (verde). Las flechas indican la historia de circulación de un mutante viral adaptado a *Aedes albopictus*..

La especial singularidad de la emergencia del virus Chikungunya se debe a la asociación de dos fenómenos asociados a la globalización. En primer lugar, la capacidad de expansión geográfica del vector *Ae. albopictus*, que en los

últimos 20 años ha invadido gran cantidad de territorio en América, África Central y cuenca del Mediterráneo, incluidas las regiones levantinas de la península ibérica. El segundo fenómeno, la rapidez con la que se ha distribuido geográficamente un mutante viral especialmente adaptado a la replicación en mosquitos *Ae. albopictus*. Este mutante, que emergió entre la plataforma continental africana y las islas del océano Índico el pasado año 2005, se detectó en la India un año más tarde, desde donde saltó al continente europeo durante el verano del año 2007, provocando un brote de enfermedad que ha infectado a centenares de personas en el norte de Italia. Según la ponente, dada la dificultad de controlar los vectores y la entrada de pacientes virémicos, una de las principales herramientas para controlar a este virus debe pasar por el desarrollo de vacunas específicas. **(631) Powers, A. The Reemergence of Chikungunya Virus: Options for Control of a Zoonotic Arbovirus: pág 491.**

Aunque no hubo ninguna presentación relativa a Fiebre Amarilla, sí que se presentaron interesantes resultados relativos a una nueva aproximación para el diagnóstico virológico del dengue: la detección de antígeno NS1, que aparentemente complementará a la detección de anticuerpos IgM y permitirá obtener el diagnóstico etiológico desde el primer día de la aparición de la sintomatología. Thamlikitkul y colaboradores presentaron un interesante estudio prospectivo realizado en Tailandia sobre 235 sueros agudos (<5 días) de pacientes con infección confirmada serológicamente por virus Dengue. Aunque el valor predictivo positivo fue muy elevado (99%), el valor predictivo negativo fue solo del 52,5%, quizás porque más del 90% de los pacientes estudiados tenían una infección secundaria por dengue, por lo que el antígeno NS1 podría quedar enmascarado en inmunocomplejos generados con anticuerpos de memoria generados tras la infección primaria. Los autores concluyen que ante un resultado negativo debe pedirse una segunda muestra para realizar el diagnóstico definitivo mediante estudio de la presencia de anticuerpos. **(V-1904) Thamlikitkul, V. Accuracy of NS1 Antigen Detection for Diagnosis of Dengue Fever: pg 486-7**

### ***Virus de alto riesgo biológico***

Como en ediciones anteriores, la 47 Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy ha reflejado la preocupación internacional por virus

que debido a su alto riesgo biológico podrían ser utilizados como potenciales armas biológicas, en esta edición se han presentado comunicaciones sobre el virus de la Viruela (VARV), el virus de la Fiebre de Lassa LASV y el virus de la Fiebre de Crimea-Congo (CCHFV), un virus con una amplia distribución y fácilmente accesible por los frecuentes brotes naturales que produce (Figura 3).

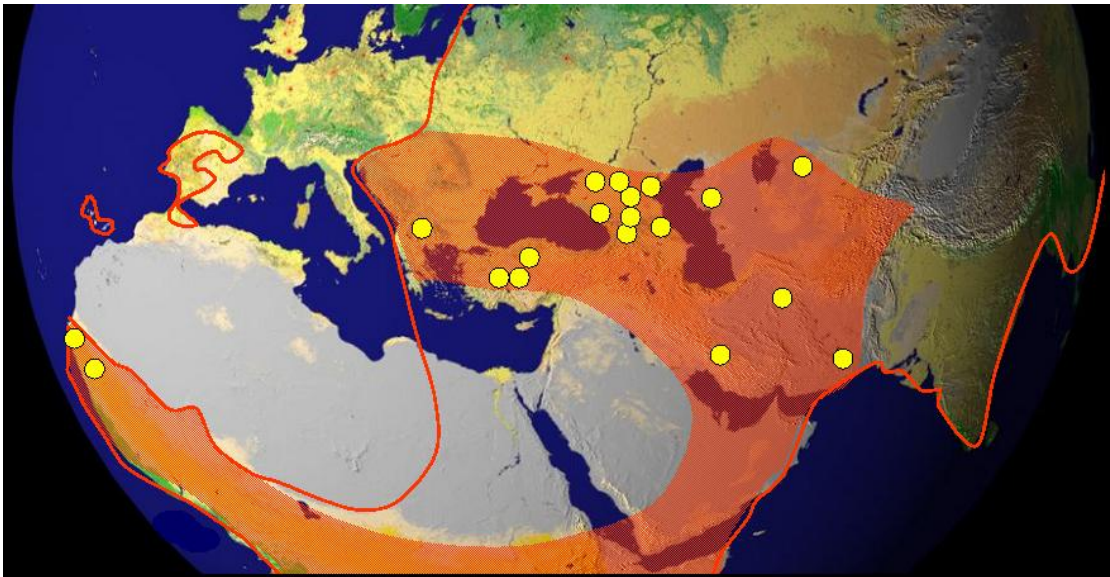


FIGURA 3. Mapa de distribución de los brotes informados de CCHF mediante PROMED desde el año 2000 (círculos amarillos); áreas con circulación histórica de CCHFV (sombreado en rojo) y áreas de presencia de su principal vector, *Hyalomma marginatum*, (bordeadas con línea roja).

El virus de la Viruela (VARV), ha estado presente en seis comunicaciones [V-1910, G-1706-332, G-1706-343, V-1919b, V-1919-564, F1-953-200] siendo común, en la mayoría de ellas el enfoque terapéutico ya desde el punto de vista preventivo, ya desde el punto de vista del desarrollo de nuevas moléculas antivirales. Se han presentado tres ponencias sobre la molécula ST-246, producto candidato junto al cidofovir para el tratamiento de los episodios infecciosos por orthopoxvirus [V-1919b, F1-953-200, V-1910]. Duraffour, S. *et. al* realizan un estudio sobre el mecanismo de acción de ST-246 empleando la metodología de RNA interferente para comprobar que F13L es la proteína vírica inhibida por ST-246 (V-1919b) Duraffour S. **Specific Inhibition of Orthopoxvirus Replication by Small Interfering RNA Involvement in the Mechanistic of ST-246.**

La segunda ponencia [F1-953-200] muestra la capacidad inhibidora *in vitro* de ST-246 sobre distintas cepas de los virus VARV y Monkeypox (MPXV) demostrando por ensayos de reducción “comet” y del tamaño de placa que concentraciones tan bajas como 0,05µM tienen un potente efecto inhibidor de la replicación viral **(F1-953-200) Smith, S.K. ST-246 In Vitro Efficacy against Orthopoxvirus variola and Orthopoxvirus monkeypox: pág 237.**

En la tercera comunicación (Hruby *et al*) se presenta la molécula ST-246 en un terapia combinada con Inmunoglobulina de Vaccinia y cidofovir como tratamiento del eczema producido en un niño de 28 meses, con historial de dermatitis atópica severa, en contacto con su padre al que se le había administrado recientemente la vacuna de viruela. En esta comunicación se resalta la tolerancia al tratamiento combinado valorándose el empleo de moléculas con distintos mecanismos de acción **(V-1910) Hruby, D. Eczema Vaccinatum: Successful Outcome with an Intensive Therapeutic Approach: pág 488.**

Dos preparados vacunales de Viruela, Dryvax y CJ-50300, han sido analizados en las comunicaciones presentadas en esta conferencia [G-1706-332, G-1716-343]. Ovsyannikova, I.G. *et al* realizan un estudio sobre la vacuna con licencia en Estados Unidos, Dryvax, en el que analizan la respuesta inmunitaria frente a las variables sexo, edad y raza. La respuesta humoral es analizada mediante el uso de un sistema β-gal como gen “reportero” y la respuesta celular es analizada al medir la secreción de citoquinas de respuesta inflamatoria Th1/Th2 estimulada por Vaccinia. En este estudio observan la ausencia de diferencias significativas en la producción de anticuerpos ante las variables raza y edad, sin embargo, los títulos de anticuerpos son significativamente mayores en las mujeres. Al evaluar el patrón de citoquinas secretadas observan diferencias según la raza y el sexo, y por tanto sugieren la posibilidad de que existan variaciones de respuesta inmunitaria atendiendo a la raza y el sexo ante la administración de la vacuna de viruela **(G-1706-332) Ovsyannikova, I.G. Racial and Gender Disparities in Immune Response to Smallpox Vaccine among Healthy Adults: pág 284.**

En la segunda comunicación sobre preparados vacunales de viruela (CJ-50300) Kim, S. *et al* realizan un estudio de cinética de respuesta inmunitaria tras la administración de CJ-50300 observando que la respuesta celular

aparece entre una y dos semanas antes que la respuesta humoral localizándose los valores más altos de respuesta inmunitaria tanto celular con humoral alrededor de la segunda y cuarta semana después de la administración de la vacuna **(G-1716-343) Kim, S. Detailed Kinetics of Immune Responses to a New Cell Culture-Derived Smallpox Vaccine in Vaccinia-Naïve Adults: pág 287.**

Con la finalidad de desarrollar un modelo animal apropiado para valorar la eficacia de nuevas moléculas antivirales y vacunas frente al virus de la Viruela (VARV) Edghill Spano, Y. *et al* han realizado un estudio en primates no humanos, *Macaca fascicularis*, en los que analizan el desarrollo sintomático de la enfermedad ante variables tales como la dosis administrada y la vía de entrada (parenteral y respiratoria) de un inóculo del virus Monkeypox (MPXV). En sus resultados observan diferencias sintomáticas en función de los dos parámetros analizados, lo que aporta valiosa información que permite caracterizar este sistema como modelo animal **(V-1919) Edghill Spano, Y. Monkeypox Disease Outcome Differs Following Parenteral and Respiratory Exposure of Cynomolgus Macaques: pág 490**

El enfoque terapéutico también es común en el caso del virus de la Fiebre de Crimen-Congo (CCHFV) [V-1908-553, V-1907-552, V-1909-554, V-1262] y el virus de la Fiebre de Lassa (LASV) [F1-954-201] abordándose de nuevo los estudios de actividad de la Ribavirina, único antiviral, por el momento, por el que muestran sensibilidad ambos virus. En el caso del tratamiento de la Fiebre de Lassa se presenta un estudio comparativo sobre la eficacia de la molécula ST-193 y la Ribavirina en modelo animal, concluyendo los autores que su mayor eficacia procura que represente una alternativa a la Ribavirina en el tratamiento de dicha infección **(F1-954-201) Cashman K.A. Evaluation of the Antiviral Efficacy of Small Molecule Compound ST-193 in a Guinea Pig Lassa Virus Lethal Challenge Model: pág 237.**

Aunque el virus de CCHF muestra sensibilidad frente a la ribavirina no ha podido ser demostrada su eficacia de forma concluyente, en esta conferencia se presentan dos comunicaciones con la finalidad de poner de manifiesto su eficacia, sin embargo en las dos ponencias se concluye que no se observa diferencias entre el grupo control y el grupo tratado con Ribavirina. Cevik, M *et al* realizan un estudio en 25 enfermos en el que establecen dos grupos, a

nueve se les administra ribavirina por vía intravenosa y 16 enfermos a los que no se les aplica el antiviral. Basándose en el rango de supervivencia observan que éste es similar en ambos grupos **(V-1907) Cevik, M. A Preliminary Study to Evaluate the Effect of Intravenous Ribavirin Treatment on Survival Rates in Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: pág 487.**

Elandi, N. *et al* plantean un estudio similar al anterior, en esta caso la administración de ribavirina se realiza por vía oral y se valora la reducción de la carga viral en suero; de nuevo, no observan diferencias significativas en la reducción de la carga viral entre ambos grupos **(V-1909-554) Elaldi, N. Efficacy of Oral Ribavirin Treatment on Serum Viral Loads and Cytokine Levels in Severe Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) Cases: pág 488.**

En el esfuerzo realizado para abordar el tratamiento de la Fiebre Hemorrágica de Crimen-Congo se ha empleado la inmunoterapia a partir de plasma de personas que han superado la infección, en relación a esta estrategia Aydin, K. *et al* han presentado una comunicación en la que analizan el empleo de inmunoglobulina G policlonal administrada por vía intravenosa (IVIG) valorando parámetros hemáticos. Observan que la recuperación de los parámetros hemáticos se realiza en menor tiempo en el grupo al que se le había administrado IVIG, aunque esta reducción no es estadísticamente significativa **(V-1908-553) Aydin, K. The Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Treated with Intravenous Immunoglobulin: pág 487.**

A fin de caracterizar los niveles de citoquinas durante la infección por CCHFV y analizar el papel que puedan desempeñar en el transcurso del proceso patogénico Elaldi, N. *et al* realizaron un estudio en 50 personas sanas y 31 persona infectada en las que se había detectado genoma viral en el suero. De las 31 personas, 11 no superaron la infección. No detectaron diferencias en el nivel de IL-1 $\beta$  sin embargo, se detectaron mayores niveles de IL-6 y TNF- $\alpha$  en el grupo de enfermos con respecto a los sanos, y estos valores resultaron aún mayores en el grupo que no superó la infección con respecto al grupo que se recuperó. Los autores concluyen que IL-6 y TNF- $\alpha$  desempeñan un papel decisivo en el proceso patogénico de la infección por CCHFV, **(V-1262) Elaldi, N. Markedly Elevated Serum Cytokine Levels and High Viral Titers in Fatal Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF): pág 482.**

### ***Métodos para la detección de virus insospechados.***

El marco actual de movimientos internacionales tanto de viajeros como de mercancías empuja a no limitar el diagnóstico al espectro etiológico de los virus autóctonos lo que supone disponer de metodología adecuada (genérica, rápida) para detectar la gran variedad de virus patógenos. Sobre el desarrollo de metodología de amplio espectro se han expuesto dos comunicaciones [764, 2013], en la primera se describe el empleo de microarrays de DNA para detectar virus conocidos y virus desconocidos con secuencias nucleotídicas homólogas a nivel de familia (panViralDNAmicroarrays) así como el empleo métodos de secuenciación que permite identificar nuevas especies virales con gran divergencia en sus secuencias **(764) Wang, D. Novel Approaches to Viral Discovery: pág 469**; y la segunda comunicación no tiene un enfoque diagnóstico sino identificar nuevas dianas moleculares de antivirales o para el desarrollo de vacunas combinando el empleo de microarrays de DNA y de metodología proteómica (Mass and Time Tags, espectrometría de masas) para el análisis de complejos proteicos **(2013) Katze, M. Can Functional Genomics Unlock the Mysteries of Viral-Host Interactions and Prevent the Next Pandemic?: pág 516.**

## ***Decálogo final***

1. (V-1906-551) Marchaim, D. Sero-Epidemiologic Study of West Nile Virus Disease among Hospitalized Patients in Tel Aviv, 1999-2005, pág 487.
2. (V-1905-550) Plate, D.K. Geographic Information System Mapping of Mosquito Surveillance Data to Provide Early Warning of West Nile Virus Transmission Risk, pág 487
3. (631) Powers, A. The Reemergence of Chikungunya Virus: Options for Control of a Zoonotic Arbovirus: pág 491.
4. (Abstract V-1904) Thamlikitkul, V. Accuracy of NS1 Antigen Detection for Diagnosis of Dengue Fever: pg 486-7
5. (V-1919b) Duraffour S. Specific Inhibition of Orthopoxvirus Replication by Small Interfering RNA Involvement in the Mechanistic of ST-246.
6. (F1-953-200) Smith, S.K. ST-246 In Vitro Efficacy against Orthopoxvirus Variola and Orthopoxvirus Monkeypox: pág 237.
7. (V-1919) Edghill Spano, Y. Monkeypox Disease Outcome Differs Following Parenteral and Respiratory Exposure of *Cynomolgus Macaques*: pág 490
8. (F1-954-201) Cashman K.A. Evaluation of the Antiviral Efficacy of Small Molecule Compound ST-193 in a Guinea Pig Lassa Virus Lethal Challenge Model: pág 237.
9. (V-1262) Elaldi, N. Markedly Elevated Serum Cytokine Levels and High Viral Titers in Fatal Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF): pág 482.
10. (2013) Katze, M. Can Functional Genomics Unlock the Mysteries of Viral-Host Interactions and Prevent the Next Pandemic?: pág 516.