

Capítulo

64

Picornavirus

Marité Bello Corredor
y Pedro J. Mas Lago

INTRODUCCIÓN

El nombre *Picomavirus* (*pico: small; ma: ribonucleic acid*) se introdujo en 1963 para denominar a esta familia viral que comprende a un grupo de virus de pequeño tamaño y ácido ribonucleico (ARN) como material genómico. Se divide en 6 géneros: *Enterovirus*, *Rinovirus*, *Hepatovirus*, *Cardiovirus*, *Aphovirus* y *Parechovirus*, siendo los dos primeros los más importantes para el hombre, produciendo una amplia gama de enfermedades que van desde un resfriado común a una parálisis grave.

PROPIEDADES IMPORTANTES DE LOS PICORNAVIRUS

- Virión: icosaédrico, de 28 a 30 nm de diámetro, contiene 60 subunidades.
- Composición: ARN (30 %), proteína (70 %).
- Genoma: ARN de cadena única, lineal, sentido positivo, 7,2 a 8,4 kb de tamaño, PM 2,5 000 000, infectante, tiene una proteína unida al genoma (VPg).
- Proteínas: cuatro polipéptidos principales (VP1, VP2, VP3 y VP4) escindidos a partir de una proteína precursora; las proteínas de superficie VP1 y VP3 son sitios fundamentales para la fijación de anticuerpos, la proteína interna VP4 se asocia con el ARN viral.
- Envoltura: no posee.
- Replicación: en el citoplasma.

Los *enterovirus* y los *rinovirus*, patógenos humanos principales dentro de esta familia viral, presentan algunas diferencias:

	Enterovirus	Rinovirus
Mayor aislamiento	Tracto digestivo	Tracto respiratorio
Excreción respiratorias	Hecesi	Secreciones
Estabilidad en pH ácido	Muy estables	Lábiles
Densidad en CICs (g/cm ³)	1,34	1,40
Temperatura óptima de crecimiento	37 °C	33 °C

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DEL VIRIÓN

Los viriones de los enterovirus y rinovirus son partículas esféricas, pequeñas y compactas que miden entre 22 y 30 nm de diámetro, las cuales carecen de envoltura lipídica externa. Se componen de un core interno ARN rodeado por una capa proteica o cápside. La simetría de la cápside es icosaédrica y la misma está constituida por 60 subunidades o protómeros, presentando una simetría 5:3:2. Cada protómero está compuesto por 4 proteínas (VP1-VP4). Las proteínas VP1, VP2 y VP3 se encuentran en la superficie del virión y VP4 se localiza en el interior asociada con el ARN. Pueden existir trazas de una quinta proteína, VP0 si el clivaje para formar VP2 y VP4 no es completo durante el ensamblaje del virión, mientras el ARN se inserta en la cápside. El ácido nucleico constituye el 30 % y las proteínas el 70 % del peso del virión. Mediante estudios de difracción de rayos X, se han determinado las estructuras moleculares de Poliovirus y Rinovirus, las tres proteínas virales de mayor tamaño (VP1, VP2 y VP3) poseen una estructura central semejante, donde el esqueleto peptídico gira sobre sí mismo para formar un barril de ocho tiras (barril β) unidas por puentes de hidrógeno. La cadena de aminoácidos entre el barril β y las porciones terminales N y C de la proteína contiene una serie de asas donde se encuentran los principales sitios antigénicos de la superficie del virión que participan en la neutralización de la infección viral. Alrededor de cada vértice pentamérico de la superficie, existe una hendidura o cañon, se cree que en el piso del cañon está el sitio de fijación al receptor utilizado para adherir al virión a una célula huésped, esta posición protegería al sitio de adhesión a la célula de las variaciones estructurales influenciadas por la selección de anticuerpos en los huéspedes, ya que el cañon es muy estrecho e impide que las moléculas de anticuerpos penetren profundamente.

GENOMA: ESTRUCTURA, ORGANIZACIÓN Y FUNCIONES

El genoma de los *picornavirus* es una molécula única, continua, lineal y simple de ARN denominado ARN(+), se considera infeccioso al poder constituir directamente un ARN mensajero (ARNm) para la síntesis de proteínas virales. Su tamaño oscila entre 7,2 y 8,4 kb, el coeficiente de sedimentación es 35s y peso molecular de $2,4$ a $2,7 \times 10^6$ daltons. Contiene aproximadamente 7400 nucleótidos (nt). Cuentan con un 30 % de adenina, 24 % de citosina, 22,5 % de guanina y 23,5 % de uracilo. Su extremo 3' es poliadenilado y 5' tiene unido covalentemente un oligopéptido codificado por el virus, denominado VPg (del inglés virion protein genome). El genoma es monocistrónico y muestra en ambos extremos de la cadena, zonas no codificadoras llamadas NTR (del inglés *nontranslated region*). En el centro se encuentra la zona codificadora que porta un total de 11 genes que darán lugar a una poliproteína de 247 kdaltons que, luego de un proceso proteolítico llevado a cabo por tres proteasas virales (2A, 3C y 3CD) dará lugar a 11 proteínas finales con diversas funciones. El 71 % de los nt es común entre los tres serotipos de Poliovirus, y los aminoácidos que codifican son comunes en un 88 %. Esta zona posee 3 dominios mayores denominados P1, P2 y P3 que darán lugar a 3 productos primarios:

P1 codifica la síntesis de proteínas de la cápside y agrupa los genes 1A, 1B, 1C y 1D.

P2 codifica la síntesis de proteínas de la morfogénesis y agrupa los genes 2A, 2B y 2C.

P3 codifica la síntesis de la VPg, proteasas y replicasas. Agrupa los genes 3A, 3B, 3C y 3D (Fig. 64.1).

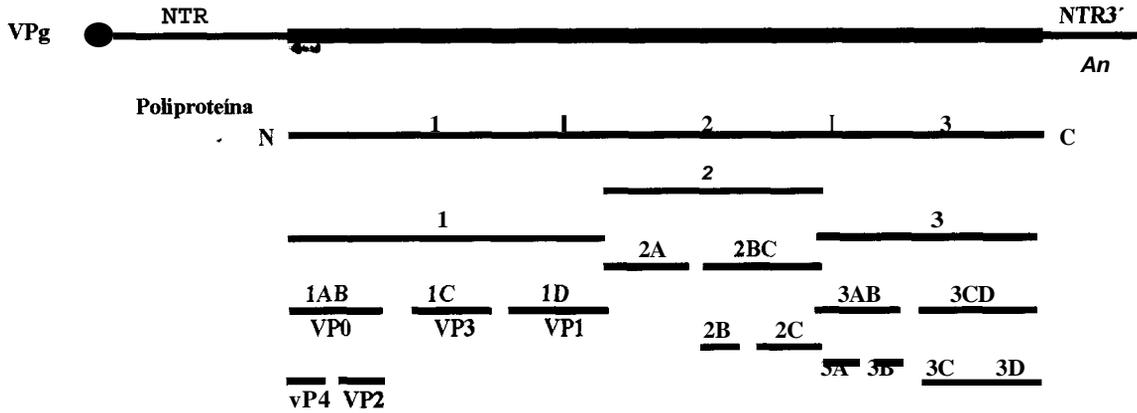


Fig. 64.1 Organización y expresión del genoma del *Picornavirus*. Se observa en el extremo 5' la presencia de 3B (VPg), así como en el extremo 3' la existencia de terminal poli A (An). La línea oscura indica la región codificadora, que colinda en sus extremos con las regiones NTR. En la poliproteína se señalan los extremos amino (N) y carboxilo (C). Se observan además los productos del clivaje de la poliproteína y de sus precursores.

REPLICACIÓN DE LOS PICORNAVIRUS

El evento inicial en la replicación es la adsorción del virión a los sitios receptores en la membrana plasmática, influenciada por el bajo pH y dependiente de los iones calcio y magnesio, excepto los *Poliovirus* que requieren de pH entre 4,5 y 8,5 y la presencia de iones monovalentes en el medio. El sitio de unión al receptor celular ha sido identificado en la superficie del virión y se encuentra sobre la base de una depresión que está limitada por el vértice del pentámero y se asemeja a un "cañón" de 25 Å de profundidad.

Después de la adsorción, el virus penetra a la célula por mecanismos poco conocidos, luego sigue el desnudamiento de este y la liberación del ARN viral dentro del citoplasma, donde ocurre el proceso replicativo. Usando ribosomas y otras proteínas de la maquinaria celular, el ARN viral (que ya es ARNm), forma polirribosomas para la síntesis directa de una poliproteína que es posteriormente cortada formando los precursores proteicos P1, P2 y P3. Los siguientes cortes son autocatalíticos y dan lugar a 3 proteínas más pequeñas que son: la proteinasa 3C (necesaria para el corte de proteínas virales), la proteína 3AB, precursora de VPg y probablemente necesaria para la síntesis de ARN, y una ARN polimerasa (3D) requerida para la copia del ARN(-) poli U en 5' a partir de su complementario (ARN(+) 3' poli A). Este ARN es llamado intermediario replicativo (IR) y en el retículo endoplásmico liso servirá de molde en la formación simultánea (4 a 8 por cada IR) de ARN(+) para la traducción, y algunos para la síntesis adicional de ARN(-). Cuando la concentración de proteínas aumenta, se incrementa también el número de ARN(+) en el complejo replicativo, y este se encapsidará previa unión de VPg.

Como paso preliminar en el ensamblaje, el precursor de cubierta P1 es cortado por proteinasas virales para formar una subunidad 5s (promotor inmaduro) compuesta por tres agregados proteicos (VPO, VP3 y VP1). La subunidad 5s forma pentámeros, 12 de los cuales son requeridos para formar las 60 subunidades proteicas de la envoltura (Fig 64.2).

La formación de virus infecciosos es acompañada de cortes de maduración de VP0 (en VP4 y VP2), catalizado por la propia VPO en unión con el ARN viral, para quedar las 4 subunidades características de los *picornavirus*.

El periodo de eclipse, también llamado período latente o de laguna, dura típicamente de 2 a 4 h, y se puede disminuir por el aumento de la multiplicidad de infección.

Terminado el proceso de maduración las partículas virales completas cuentan con 60 copias de cada proteína capsídica, una copia del genoma ARN(+) y una copia de VPg; estas frecuentemente forman cristales en el citoplasma y son finalmente expulsadas al exterior por la lisis de la célula infectada. Durante la replicación no se producen ARNm subgenómicos.

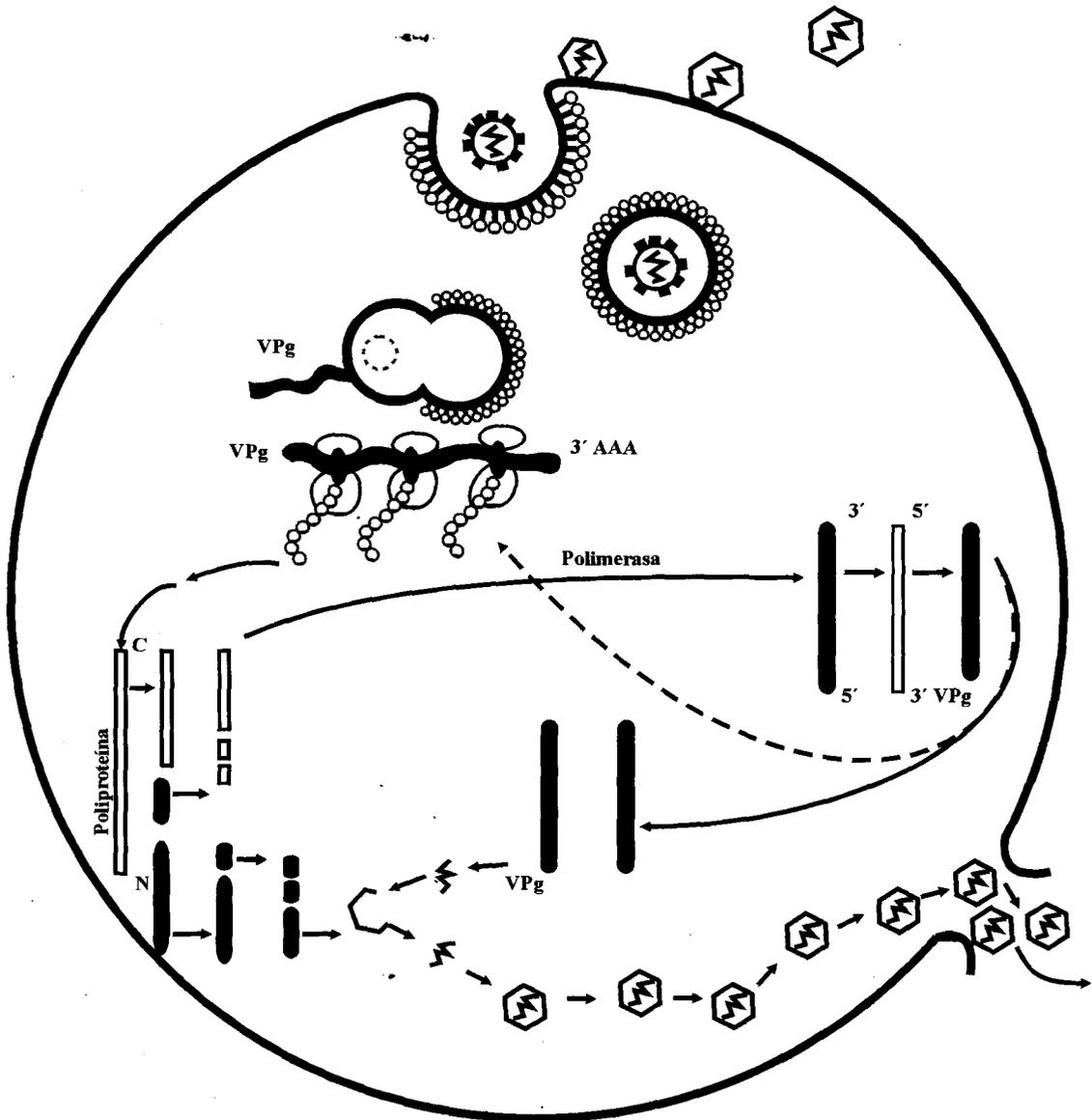


Fig. 64.2 Replicación de los Picornavirus: es independiente del ADN de la célula huésped y se realiza en el citoplasma. La unión de los virus a la célula efectora sólo ocurre a través de sitios receptores específicos de la superficie celular, con esta adsorción se debilita la cápside viral. El virión penetra en la célula por endocitosis, el genoma ARN simple (+) es liberado y usado como ARNm para la síntesis de proteínas. A partir del genoma del virión se sintetiza una proteína gigante que da lugar a múltiples proteínas, como la ARN polimerasa ARN dependiente que produce una plantilla de la cadena (+) del genoma y replica el genoma. La proteína VPg se adhiere al genoma viral, las proteínas estructurales se asocian a la cápside, se produce la encapsulación dando lugar a viriones que son liberados con la lisis celular.

El tiempo requerido para un ciclo de multiplicación completo varía de **5 a 10h**, dependiendo de variables como el pH, la temperatura, el virus, la célula hospedera, el vigor nutricional de la misma y el número de partículas que la infectan. Bajo condiciones favorables son expulsadas de 25 000 a 100 000 partículas por célula.

GÉNERO ENTEROVIRUS

Los *Enterovirus* constituyen un amplio grupo de virus causantes de múltiples enfermedades en el hombre, que van desde parálisis grave hasta meningoencefalitis, pleurodinia, miocarditis, hepatitis, lesiones de piel y mucosas, trastornos respiratorios e intestinales, enfermedad febril indiferenciada y conjuntivitis. Afortunadamente, la infección subclínica es mucho más común que la infección clínicamente manifiesta. Diferentes *Enterovirus* pueden producir el mismo síndrome; por otra parte, el mismo *Enterovirus* puede causar más de un

síndrome. Además, algunos síntomas clínicos producidos por los *Enterovirus* no pueden distinguirse de los provocados por otros grupos virales, por tanto, se requieren pruebas de laboratorio para determinar la causa. También pueden producir enfermedades en animales los cuales incluyen bovinos, cerdos, monos y ratones (Cuadro 64.1).

Cuadro 64.1. Clasificación de los *Enterovirus*

Enterovirus	Tipos
<i>Poliovirus</i>	1,2,3
<i>Coxsackievirus</i> A	1-24*
<i>Coxsackievirus</i> B	1-6
<i>Echovirus</i>	1-33*
Otros <i>Enterovirus</i>	68-71

* No existen: *Coxsackievirus* A23, *Echovirus* 10 y 28.

A partir de 1969, a los nuevos *Enterovirus* identificados se les asigna un número en vez de subclasificarlos como *Coxsackievirus* y *Echovirus*.

REACCIÓN FRENTE A AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

1. Estables a -70°C durante varios años, permanecen viables por meses a -20°C , por semanas a 4°C y a temperatura ambiente por varios días.
2. Resisten la acción del tter, desoxicolato de sodio, cloroformo y otros solventes lipídicos debido a que carecen de envoltura externa.
3. Acido estables (pH 3-5), en presencia de materia orgánica resisten pH inferiores a 3 y toleran las sales biliares, lo que es importante en su paso a través del estómago e intestino delgado.
4. La densidad del virión y de las partículas vacías, en cloruro de cesio es de 1,34 y el coeficiente de sedimentación en gradiente de sacarosa es 156S.
5. Se inactivan por las radiaciones U.V. y la desecación; se destruyen por la exposición a temperaturas de 50 a 55°C , 30 min, pero si se añade al medio cloruro de magnesio a concentración molar resisten temperaturas de 50°C durante 1 h.
6. Sensibles al tratamiento con ciertos desinfectantes (formaldehído al 0,3% y ácido clorhídrico 0,1N).
7. Se inactivan con urea y guanidina (inhiben la liberación de ARN viral).
8. Susceptibles a la luz visible cuando son tratados con colorantes vitales que se incorporan dentro de su estructura (rojo neutro, acridina y proflavina).

SUSCEPTIBILIDAD ANIMAL Y CRECIMIENTO DEL VIRUS

El poder patógeno de los *Enterovirus* para los animales de laboratorio varía de acuerdo con los grupos de virus.

En cuanto a los cultivos celulares, existe un amplio espectro de células susceptibles a los *Enterovirus*. Los *Enterovirus* desarrollan efectos citopáticos (ECP), es decir cambios morfológicos en las células susceptibles, los que se observan por examen directo al microscopio. Las células se vuelven redondas y más refringentes, desprendiéndose de la superficie del frasco o tubo a donde están adheridas, produciéndose la total destrucción del cultivo celular. Por examen de preparaciones coloreadas, se observa en el citoplasma de las células infectadas, una masa eosinófila yuxtanclear, que aumenta de tamaño progresivamente, rechaza el núcleo a la periferia hasta que se produce necrosis de la célula; el núcleo se observa picnótico. Por microscopía electrónica se observa que esta masa está constituida por numerosos viriones que adoptan una disposición cristalina.

PATOGENIA

La boca es la puerta de entrada de los *Enterovirus* siendo en la bucofaringe (amígdalas y ganglios linfáticos) y en el intestino (placas de Peyer) donde se produce la multiplicación primaria. Una semana después del inicio de los síntomas, es difícil aislar el virus de la faringe, sin embargo, continúa siendo eliminado en las heces durante 4 y 6 semanas, aún cuando los

niveles de anticuerpos en sangre sean elevados. En el primer día, la infección se extiende a los ganglios linfáticos regionales (cervicales profundos y mesentéricos) produciéndose una viremia primaria transitoria de aproximadamente 3 días, llegando a diversos órganos del sistema retículo endotelial (SRE): hígado, bazo y médula ósea y que coincide con el inicio de las manifestaciones clínicas. Después de un período de multiplicación en estos órganos, los virus difunden a la sangre desarrollando una viremia secundaria prolongada o persistente y puede localizarse en los tejidos u órganos para los que tienen tropismo (meninges, sistema nervioso, músculos estriados, miocardio, mucosa respiratoria y piel), donde producen reacciones inflamatorias con necrosis de las células. En el caso de las conjuntivitis por Enterovirus, la puerta de entrada es la conjuntiva y a partir de aquí el virus se disemina por el organismo como el resto de los *Enterovirus* (Fig 64.3).

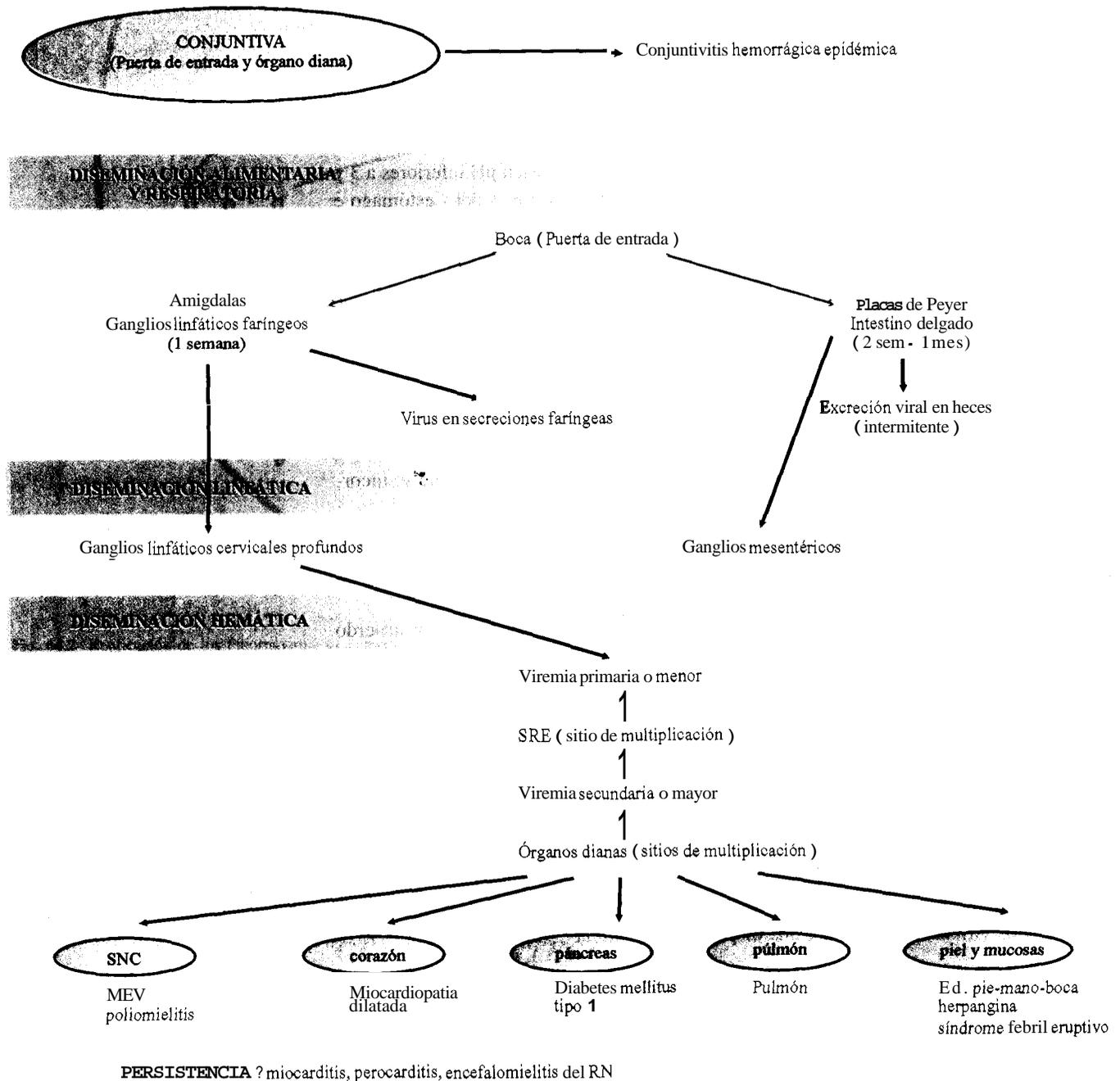


Fig. 64.3 Patogenia de la infección-enfermedad por enterovirus.

POLIOVIRUS

Los *Poliovirus* son los agentes etiológicos causantes de la poliomielitis, enfermedad infecciosa aguda que en su forma grave afecta el sistema nervioso central, destruyendo las motoneuronas en la médula espinal resultando en una parálisis flácida. Sin embargo, casi todas las infecciones por *Poliovirus* son subclínicas. Estos virus son los más importantes y estudiados dentro del género *Enterovirus*, sirviendo como modelo para estudios de biología molecular sobre la replicación de los *Picomvirus*.

Propiedades generales

Los *Poliovirus* son *Enterovirus* típicos (véase antes), pero presentan algunas particularidades:

1. Se inactivan cuando se calientan a 55 °C durante 30 min, pero el Mg^{2+} 1 mol/L, la leche y el helado impiden esta inactivación.
2. Se inactivan con la pasteurización adecuada.
3. Los *Poliovirus* purificados se inactivan con cloro en concentración de 0,1 ppm, pero para desinfectar las aguas negras contaminadas con el virus en suspensión fecal y en presencia de materia orgánica se necesitan concentraciones mucho mayores.

Susceptibilidad de los animales y cultivos celulares

Los *Poliovirus* infectan al mono cuando la inoculación se hace en cerebro o médula espinal. Los chimpancés y los monos cynomolgus pueden ser infectados por vía bucal, aunque la infección es asintomática y los animales se convierten en portadores del virus en el intestino. Es poco frecuente su replicación en ratones o embriones de pollo.

Los *Poliovirus* crecen en cultivos primarios, diploides y de línea de origen humano y de riñón, testículo y músculo de mono; no crecen en células de animales inferiores. Ellos requieren de un receptor de membrana específico de primate para producir la infección y la falta de este sobre la superficie de las células que no son de primate las hace resistentes a dichos virus. Esta restricción puede superarse introduciendo *Poliovirus* o el gen receptor viral en las células resistentes a través de vesículas lipídicas sintéticas (liposomas), convirtiendo a estas células en susceptibles. Se han desarrollado ratones transgénicos que contienen al gen receptor primario y son susceptibles a los *Poliovirus*.

Propiedades antigénicas

Existen 3 tipos antigénicos o serotipos: *Poliovirus 1*, *Poliovirus 2* y *Poliovirus 3*, aunque hay relación antigénica entre ellos. Se pueden preparar antígenos fijadores de complemento (FC') de cada tipo a partir de cultivo de tejidos o de muestras de sistema nervioso central, también al inactivar el virus con formalina, calor o luz ultravioleta, se libera un antígeno soluble FC', este antígeno presenta reacción cruzada y fija el complemento con anticuerpos heterotípicos a poliomielitis. Las preparaciones de *Poliovirus* contienen dos antígenos específicos de tipo y pueden detectarse mediante pruebas de ELISA y de FC', son los antígenos D (o N, nativo) y C (o H, calentado); por calentamiento la forma D puede convertirse en la C. La variante D representa partículas completas que contienen ARN, la variante C partículas vacías. Los antígenos C de los tres tipos virales presentan reacción cruzada, pero los antígenos D no.

Patogenia

Después de la entrada por vía oral o respiratoria, generalmente los *Poliovirus*, al igual que el resto de los *Enterovirus* se localizan específicamente en la faringe y en el intestino, con una activa multiplicación en las amígdalas y placas de Peyer. Una semana después del

inicio de los síntomas, es difícil aislar el virus de la faringe, pero continúa siendo eliminado por las heces varias semanas (véase antes). Después de la viremia secundaria es frecuente que se produzca un cuadro clínico menor, pero los Poliovirus circulantes en la sangre pueden invadir el sistema nervioso central, sin que los anticuerpos producidos al inicio de la enfermedad puedan evitar al paso a las fibras nerviosas. Los **Poliovirus** pueden propagarse a lo largo de los cilindros de los nervios periféricos, hacia el sistema nervioso central y avanzar a lo largo de las fibras de las motoneuronas inferiores para afectar a la médula espinal o el cerebro. Puede haber propagación neural si un niño presenta una infección inaparente y se somete a una amigdalectomía, permitiendo el acceso a las fibras nerviosas. Los **Poliovirus** invaden ciertos tipos de células nerviosas, dañándolas o destruyéndolas totalmente. Las astas anteriores de la médula espinal son muy afectadas y en los casos graves también los ganglios grises intermedios, las astas posteriores y el ganglio de la raíz dorsal. Las células nerviosas muestran alteraciones rápidamente, desde cromatólisis leve hasta neurofagia y destrucción. En el cerebro se afectan frecuentemente la formación reticular, los núcleos vestibulares y los núcleos cerebelosos profundos; la corteza prácticamente es respetada, excepto la corteza motora a lo largo de la circunvolución precentral. Los **Poliovirus** no se multiplican en el músculo *in vivo*, los cambios en los nervios periféricos y en los músculos voluntarios son producto de la destrucción de las células nerviosas. Además de los cambios patológicos en el sistema nervioso central puede presentarse miocarditis, hiperplasia linfática y ulceración en las placas de Peyer.

Datos clínicos

En una persona susceptible expuesta a los **Poliovirus** se puede observar varias respuestas, que van desde la infección inaparente hasta la poliomielitis parálitica. La forma más frecuente la constituye la infección asintomática, la cual ocupa de 90 a 95 % de las infecciones. La enfermedad puede tener un curso bifásico, donde sus formas más graves pueden ir precedidas de cuadros menores, aunque no siempre ocurre así.

1. Poliomielitis abortiva. Es la variante más frecuente de los casos infectados, el paciente solo presenta la enfermedad menor, caracterizada por fiebre, fatiga, cefalea, anorexia, mialgia, dolor de garganta, vómitos, estreñimiento, en diferentes combinaciones. Dichas manifestaciones pueden durar dos o tres días ocurriendo después la completa recuperación del paciente, sin presentar signos de focalización neurológica. Esta forma usualmente no es diagnosticada a no ser que se realice aislamiento viral a una muestra del paciente y además se encuentre una conversión de los anticuerpos.
2. Poliomielitis no parálitica (meningoencefalitis viral). Aparece en el 1 % de los infectados, además de los síntomas y signos mencionados presenta rigidez y dolor en la espalda y cuello, cuadro clínico típico de una meningoencefalitis viral. Tiene un pronóstico favorable y el paciente suele curarse en pocos días. Sólo un número muy pequeño de casos evoluciona hacia una parálisis.
3. Poliomielitis parálitica. Sólo se presenta en el 0,1 % de los pacientes que son infectados, es la forma más grave de la enfermedad. Suele ir precedida por un período de fiebre y malestar general, cuadro que típicamente desaparece en pocos días, pero puede presentarse sin estos antecedentes. De 5 a 10 días después reaparece la fiebre con signos de irritación meníngea y parálisis flácida asimétrica resultante del daño de la motoneurona inferior. En las partes afectadas surgen calambres musculares, espasmos y contorsiones. Entre el 6 y 25 % de los casos de parálisis aparece afectación bulbar. La magnitud del daño varía mucho. La recuperación máxima habitualmente es antes de los 6 meses, con parálisis residual mucho más perdurable. La mortalidad en los niños es de 12 al 5 %, siendo mayor en los adultos, entre un 15 y 30 %.
4. Atrofia muscular progresiva postpoliomielitis (síndrome postpolio). Este síndrome clínico se presenta con frecuencia en algunos pacientes que se recuperaron de la poliomielitis parálitica, después de 25 a 30 años después de la infección aguda y se caracteriza por debilidad, dolor y atrofia de las masas musculares. Tiene un curso clínico gradual terminando con la total incapacidad de las áreas afectadas. Se plantea que esta enfermedad

puede deberse a la posible reactivación de una infección viral persistente, o que se trate de un problema de autoinmunidad a las proteínas virales. Otros creen que el síndrome pospoliomielitis es el resultado de la atrofia o agotamiento de las neuronas que inervan a los músculos afectados.

Tratamiento

No hay tratamiento específico, es sintomático.

Diagnóstico de laboratorio de los *Poliovirus*

Los resultados de las pruebas de laboratorio considerados aisladamente, por lo general, son poco demostrativos, hay que tener en cuenta que incluso el aislamiento de *Poliovirus* en las heces de un enfermo, lo cual es uno de los datos más significativos, dada la difusión de los *Poliovirus* en zonas endémicas, no indica necesariamente que sea el agente causal de la enfermedad y la demostración de una seroconversión frente al mismo serotipo no siempre proporciona el diagnóstico de certeza, ya que puede tratarse de una infección subclínica simultánea. Sólo la consideración conjunta de los datos del laboratorio con el estudio clínico y epidemiológico del caso, descartando cualquier otra etiología, permite llegar al diagnóstico. Los métodos de diagnóstico de las infecciones virales pueden dividirse en tres grupos: métodos de aislamiento, métodos serológicos y métodos de diagnóstico rápido. Los métodos de aislamiento constan de tres etapas: toma de muestras, inoculación e identificación del virus aislado.

1. Métodos de aislamientos

a) Toma de muestras.

Como en la mayoría de las enfermedades infecciosas, las muestras deben ser tomadas en los primeros días posteriores a la aparición de los síntomas. Las heces (**h**) constituyen la muestra más útil y representativa para el aislamiento viral y se recomienda la toma seriada debido a la excreción intermitente del virus que puede estar presente hasta 6 semanas después del inicio de la infección, tanto clínica como inaparente, recogerse en recipientes estériles, mantenerlas congeladas a -20°C ó varias horas a 4°C hasta que sean tratadas. Los *Poliovirus* se recuperan rara vez del líquido cefalorraquídeo (LCR). Los exudados faríngeos, gargarismos e hisopados rectales constituyen fuentes de virus de donde se logra el aislamiento si la muestra es tomada durante los primeros 7 días de la enfermedad y es mejor transportarlos y almacenarlos en medio de transporte viral habitual, con la adición de proteínas.

Aunque poco frecuentes, otras fuentes de virus son la sangre (fase virémica), orina y el tejido cerebral obtenido de las necropsias; se transportan al laboratorio en sus tubos originales de colección, siguiendo las recomendaciones para la toma de los mismos. Todas las muestras deben trasladarse y conservarse en congelación hasta el momento de inocularlas que deben ser tratadas con antibióticos.

Para estudios serológicos se requieren muestras de sueros pareados, el primer suero se toma durante la fase aguda de la enfermedad y el segundo colectado de 14 a 21 días después, en la fase convaleciente, se deben conservar congeladas hasta su uso.

b) Inoculación.

Las muestras obtenidas se inoculan en los sistemas biológicos susceptibles. El aislamiento en cultivo de células es el método de elección para hacer el diagnóstico. El virus se multiplica y produce el ECP característico en cultivo celular primario, diploide y de línea, tanto de origen humano como de mono, entre los 3 y 6 días de inoculados. Recientemente una línea celular continua, L20b, derivada de la transfección de la línea celular L de ratón, con el clon de ADNc (20b) del gen que codifica para el receptor humano para *Poliovirus*, ha surgido con el objetivo de disponer de un sistema de aislamiento viral selectivamente más susceptible a la infección por este virus.

c) Identificación.

La identificación específica de serotipo depende de la prueba de neutralización (Nt) que emplea mezclas de sueros hiperinmunes, siendo los más utilizados los de *Lim*

Benyesh-Melnick (LBM) que contiene antisueros equinos combinados en 8 pools capaces de identificar 42 enterovirus que crecen bien en cultivos celulares. Los aislamientos también pueden ser identificados por pruebas de Nt con sueros de referencia frente a los tres tipos de *Poliovirus*.

2. Métodos serológicos.

Los métodos serológicos en el diagnóstico de la poliomielitis, tienen un valor limitado, por lo general, el título de anticuerpos ya se encuentra elevado en el momento de detectarse los primeros síntomas y es difícil demostrar una seroconversión o el aumento significativo del título de anticuerpos en dos muestras de suero del enfermo. Se utiliza fundamentalmente la prueba de neutralización (Nt) del efecto citopatógeno, la cual es laboriosa, pero muy específica y permite el diagnóstico de tipo, pero difícilmente se detecta un aumento de título entre dos muestras de sueros pareados debido a que, generalmente, el primer suero se obtiene cuando se han instalado los síntomas clínicos y ya se produjo una respuesta inmune. Por otra parte, como los anticuerpos persisten a títulos bajos durante muchos años, la Nt es la reacción que se utiliza para determinar el grado de inmunidad de la población. La prueba de fijación del complemento (FC') es grupo específica y con antígeno de virus activo puede determinar el tipo de virus cuando se trata de una primoinfección, pues las reinfecciones producen reacciones cruzadas entre los tres serotipos. Como los anticuerpos FC' desaparecen al poco tiempo, cuando se obtiene una muestra de suero durante la convalecencia y se detecta un título elevado de anticuerpos, esto constituye una fuerte presunción diagnóstica. También puede utilizarse la prueba de Nt por reducción de placas.

Las técnicas inmunoenzimáticas como el ELISA se aplican poco al serodiagnóstico de los *Poliovirus*, pero se han normalizado ensayos indirectos para el seguimiento de la inmunidad inducida por candidatos a vacunas.

3. Métodos de diagnóstico rápido.

Actualmente son empleadas varias técnicas de diagnóstico rápido que viabilizan el diagnóstico y la caracterización de cepas, como las técnicas de biología molecular, entre ellas la hibridación y la reacción en cadena de la polimerasa (RCP), ambas para detectar el ácido nucleico viral en LCR, heces y cultivo celular.

La hibridación de ácidos nucleicos usando sondas específicas constituye una rápida y confiable alternativa en el estudio genético, brindando una importante información al diagnóstico virológico. El uso de oligonucleótidos sintéticos, generalmente de ADN, ofrece varias ventajas como sonda, incluyendo especificidad, rápida hibridación, preparación en grandes cantidades, a bajo costo. El marcaje no radiactivo con enzimas, fluoresceína, etc., ha primado en los últimos años sobre el marcaje radiactivo. Su aplicación al diagnóstico de los *Enterovirus* ha facilitado la detección rápida de miembros de este género usando sondas de secuencias comunes a varios virus (zonas NTR), así como en la detección y diferenciación de la naturaleza de agentes como los *Poliovirus*. El método tiene como desventaja la baja sensibilidad cuando el título viral es bajo, y, por tanto, es más usado en combinación con las técnicas de amplificación enzimática que lo supera en este aspecto.

La RCP ha sido la técnica más prometedora en el campo de la biología molecular aplicada a la detección directa de los *Enterovirus*. Se han aplicado tres estrategias fundamentales:

1. Detección universal de muchos serotipos.
2. Detección específica de un número limitado de serotipo.
3. Detección selectiva de variaciones en cepas de un serotipo.

Los *Poliovirus* han estado presentes en cada estrategia. El conocimiento de la existencia de fragmentos de secuencias nucleotídicas conservadas entre los miembros del mismo género (zonas NTR) ha llevado al uso de cebadores universales. Se han utilizado muestras de heces, aguas alcalinas, LCR, entre otras, en la detección rápida de *Poliovirus*. El estudio e investigación específicos de los *Poliovirus* ha sido de valor con el uso de cebadores grupo específicos, siendo las zonas de VP1, VP2 y ARN polimerasa las más seleccionadas. Se logró una RCP múltiple capaz de diferenciar a los *Poliovirus* de otros *Enterovirus* a partir de diferentes muestras; también se amplificó el gen de la replicasa y se logró detectar *Poliovirus* en LCR, linfocitos y músculo de pacientes con síndrome

pospolio. El conocimiento detallado de las diferencias nucleotídicas entre *Poliovirus* salvajes y vacunales llevó a **diseñar** una **RCP** capaz de detectar sólo los *Poliovirus* vacunales usando cebadores de VP1 y así determinar la naturaleza del agente.

4. ¿*Poliovirus* salvaje o vacunal? Ante un aislamiento viral positivo a poliovirus, máxime si procede de pacientes que sufren parálisis flácida aguda (PFA), lo más importante es determinarse si es *Poliovirus* salvaje o vacunal. Además de las condiciones epidemiológicas particulares que orientan al diagnóstico, las técnicas virológicas han sido herramientas útiles en la determinación de la naturaleza del agente. Las primeras se basaron en la labilidad del *Poliovirus* vacunal de crecer a temperaturas de 40 °C, descubiertas en 1958 y que fue llamada capacidad reproductiva a temperaturas supraóptimas (rtc 40). También se descubrió que las cepas atenuadas muestran una marcada reducción de la eficiencia de la formación de placas en medios ácidos, comparadas con las cepas salvajes, sin embargo, este marcador (llamado d) no se corresponde *tan* bien con la neurovirulencia como lo hace el rtc 40; ambos marcadores se usaron para chequear los lotes de vacunas vivas atenuadas. Se describieron también las pruebas de McBride y Wecker que comparan las curvas de Nt cinética utilizando sueros contra cepas vacunales, resultando ser neutralizadas más rápido que las salvajes. El estudio de la capacidad de crecimiento en una capa de células de mono cubierta de agar, reveló que las cepas salvajes producen placas más grandes que las cepas vacunales, denominándose **MS** a este marcador. También se observó que los virus atenuados se adsorben con más firmeza a una columna de dietilaminoetil-dextrano, y a esta capacidad se le denominó marcador E. Las "marcas genéticas" d, rtc 40, MS, McBride y E fueron usadas en los años 60, como criterios para evaluar las cepas atenuadas de *Poliovirus*. Teniendo en cuenta las diferencias antigénicas que muestran ambos tipos de *Poliovirus*, en 1979 se prepararon antisueros específicos para la diferenciación intratípica de *Poliovirus*; posteriormente otros investigadores aplicaron anticuerpos monoclonales que detectaban cada variante, pero al igual que con los antisueros, se obtuvieron resultados equivocados, ya que mutaciones con repercusión sobre los epitopes neutralizantes llevaron al no reconocimiento y, por tanto, a falsos negativos. Se desarrolló el **Fingerprinting** que reveló substanciales e inequívocas diferencias entre aislamientos salvajes y vacunales, incluso entre virus de la misma naturaleza aislados de diferentes epidemias, lo cual es muy útil en los estudios de epidemiología molecular. Los cambios fenotípicos casi siempre son expresiones de alteraciones a nivel genético, la secuenciación genómica parcial o total confirma también las diferencias entre cepas. Basado en esto y al tener la secuencia total de los *Poliovirus*, se han diseñado cebadores capaces de discriminar entre aislamientos salvajes y vacunales, y que, por tanto, resultan útiles para aplicar la técnica de **RCP** como forma de identificar la naturaleza del agente.

Inmunidad

Forman parte de la respuesta inmune, principalmente, por un lado las células sanguíneas estrictas leucocitarias (inmunidad celular), y por otra, elementos humorales como el interferón, el sistema del complemento y los anticuerpos (inmunidad humoral). La respuesta inmune que estimula la infección enterovírica incluye a los elementos mencionados, pero son los anticuerpos los principales protagonistas de la neutralización del agente.

La inmunidad pasiva es transferida de la madre al niño. Estos anticuerpos (IgG) desaparecen gradualmente durante los primeros 6 meses de vida.

Los anticuerpos neutralizantes aparecen durante los primeros días de exposición al virus, frecuentemente antes de la aparición de los síntomas, y perduran de por vida. Su formación tan temprana en la infección es el resultado de una activa replicación viral en el tracto intestinal y profundas estructuras linfáticas antes de la invasión del SNC. Los virus en cerebro y médula espinal no son influidos por los altos títulos de anticuerpos en sangre, que se encuentran en la etapa preparalítica, la inmunización sólo tiene valor si precede a la aparición de los signos que señalen una infección del SNC.

Los anticuerpos circulantes contra *Poliovirus* no son la única fuente de protección contra la enfermedad. La inmunidad secretora (IgA) alcanzada después de la recuperación de una infección natural o tras una inmunización con VOP previene la reinfección intestinal. Los

anticuerpos secretados tienen un importante papel en la defensa contra la infección por *Poliovirus* y es una de las razones del éxito de la inmunización masiva con la VOP en la interrupción de la transmisión de los *Poliovirus* salvajes.

Las personas inmunodeficientes corren un mayor riesgo de padecer la enfermedad. Estos individuos, con la adquisición del *Poliovirus* salvaje o de las cepas vacunales de *Poliovirus* (las cuales pueden revertir en ciertas ocasiones al estado salvaje), pueden desarrollar una manera atípica de la enfermedad, con un periodo de incubación mucho mayor y una alta mortalidad después de haber sufrido síntomas crónicos y una inusual distribución de las lesiones en el SNC.

Epidemiología

La poliomielitisa ha tenido tres fases epidemiológicas: endémica, epidémica y la era de la vacuna que es la actual.

1. Distribución. Mundial.
2. Estacionalidad. En el trópico y subtropical circula todo el año, en áreas templadas predominan en verano y otoño, en invierno son raros los brotes; en los países como Cuba, donde existen campañas de vacunación no se cumple la estacionalidad, los casos de parálisis se producen aproximadamente un mes después de suministrarse la vacuna como una complicación de esta.
3. Reservorio. El hombre es el único conocido.
4. Edad, sexo y raza. Puede presentarse en todos los grupos de edad, pero los niños son más susceptibles, ya que los adultos poseen inmunidad; en poblaciones aisladas puede afectar a todas las edades, en las regiones subdesarrolladas donde las malas condiciones higiénico-sanitarias favorecen la amplia diseminación del virus, la poliomielitisa es una enfermedad de la infancia (parálisis infantil) y casi todos los niños adquieren inmunidad desde edades tempranas; en los países desarrollados antes de iniciarse las campañas de vacunación, la mayoría de los pacientes eran mayores de 5 años, con la aplicación de la vacuna han variado los grupos afectados, encontrándose casos de parálisis en padres de niños vacunados. El sexo y la raza no son parámetros significativos en esta enfermedad.
5. Periodo de incubación. Puede variar de 7 a 14 días o de 3 a 35 días.

Vía de transmisión. La más importante es la fecal-oral; otras vías es la transmisión de persona a persona, el contacto con objetos, alimentos y aguas contaminadas; las moscas y las cucarachas pueden desempeñar la función de transmisores mecánicos de los virus, el virus se disemina rápido entre los miembros de una familia y se ve favorecida por el hacinamiento y las malas condiciones higiénico-sanitarias.

El *Poliovirus 1* es el más importante desde el punto de vista epidemiológico (tipo epidémico), produce 1 caso de parálisis por cada 100 infectados; el *Poliovirus 3*, considerado el tipo endémico, produce 1 caso de parálisis por cada 500 infectados y por último el *Poliovirus 2* es el menos importante epidemiológicamente, ya que produce 1 caso por cada 2 000 infectados.

Prevención y control de los *Poliovirus*

Aunque las medidas higiénicas y sanitarias limitan la diseminación del *Poliovirus*, la única medida específica para la prevención de la poliomielitisa paralizante es la inmunización con vacunas, ya sean atenuadas o inactivas.

1. Vacunas inactivadas (VIP).

Fue desarrollada originalmente en el año 1955, por el Dr. Jonas Salk, a partir de cultivos primarios de riñón de mono. Actualmente, se utilizan líneas de células de riñón de mono verde africano (Vero). Contiene los tres serotipos de *Poliovirus* en proporciones definidas y es inactivada posteriormente con formol. Esta vacuna confiere inmunidad humoral, lo que previene la diseminación del virus al sistema nervioso central (SNC). Debido a que no contiene virus vivo, no existe la posibilidad de que ocurran mutaciones, evitando así la aparición de casos de parálisis, es la vacuna de elección en los niños inmunodeprimidos y sus contactos. Sin embargo, esta vacuna produce una baja inmunidad a nivel del intestino, por lo que esta no es capaz de disminuir significativamente la circulación del

Poliovirus salvaje y la población vacunada es capaz de diseminar el mismo, esto representa el mayor obstáculo para el uso de esta vacuna en la estrategia para la erradicación de la polio. Otras de sus desventajas son: la necesidad de administrar dosis repetitivas para mantener niveles de anticuerpos detectables, su alto costo y su aplicación parenteral con un personal calificado para su aplicación. Actualmente, algunos países industrializados han introducido el uso combinado de vacuna inactivada (VIP) y vacuna atenuada (VOP) para reducir el riesgo de los casos de parálisis.

2. Vacunas atenuadas (VOP).

Esta fue desarrollada por el Dr. Albert Sabin y licenciada para su uso en el año 1962. Los 3 serotipos de *Poliovirus* fueron atenuados por pases sucesivos en cultivos celulares, tanto de células de riñón de mono como células diploides humanas. Esta vacuna es estabilizada con cloruro de magnesio y es capaz de estimular tanto anticuerpos séricos (IgG e IgM) como anticuerpos secretorios a nivel del intestino (IgA), el sitio primario donde se multiplican estos virus. Esto permite que además de proteger al individuo contra la poliomielitis, limite la multiplicación del *Poliovirus* salvaje en el intestino, sirviendo como una barrera efectiva contra la circulación de este. Los virus vacunales son excretados por las heces, permitiendo que en países con malas condiciones higiénico-sanitarias se infecten las personas no vacunadas. Esta vacuna además tiene la ventaja de ser administrada por vía oral, por lo que no necesita de un personal entrenado para su administración y su costo de producción es muy bajo en comparación con la VIP. Todas estas características hacen que haya sido seleccionada para la erradicación de la poliomielitis. El mayor problema relacionado con esta vacuna es que los virus vacunales tienden a mutar (revertir) en el curso de la multiplicación (en particular los *Poliovirus* 2 y 3) y a aumentar su neurovirulencia. Se producen así en raras ocasiones casos de parálisis, tanto en las personas vacunadas como en sus contactos, se estima que hay 1 caso de parálisis por cada 2,4 000 000 de personas vacunadas, fundamentalmente, después de la primera dosis de vacuna, siendo algo mayor en niños inmunodeficientes. Un factor limitante para la VOP es la interferencia, si el intestino de un niño está infectado con otro *Enterovirus* en el momento de administrar la vacuna se puede bloquear el establecimiento de la infección por *Poliovirus* y de la inmunidad; este puede ser muy importante en regiones (mayormente en las tropicales) donde son comunes las infecciones con *Enterovirus*. La VOP no debe suministrarse a personas inmunodeprimidas o a sus contactos en el hogar. La inmunoglobulina puede proteger durante unas cuantas semanas contra la enfermedad paralítica, pero no evita la infección subclínica y es eficaz solo si se administra poco antes de la infección, no tiene valor luego de aparecer los síntomas clínicos.

Los avances en Ingeniería Genética han permitido el desarrollo de un *Poliovirus* vivo que no pueda mutar para incrementar su neurovirulencia, generando solo mutaciones específicas y deseables; se han construido virus recombinantes a partir de virus progenitores pertenecientes a diferentes serotipos de *Poliovirus* y entre cepas virulentas y atenuadas del mismo serotipo. Las nuevas cepas "quiméricas" poseen las características biológicas deseadas: la estabilidad genética del *Poliovirus* 1 y las características inmunogénicas de los tipos 2 y 3. Estos avances pueden dar lugar a una vacuna genéticamente más estable, sin embargo, será difícil hacer pruebas de campo para este nuevo candidato vacunal, ya que habría que demostrar que la nueva vacuna produce menos de un caso por cada millón de personas susceptibles a quienes se les aplica la vacuna.

Erradicación mundial

Para inicios del nuevo siglo, las Organizaciones Mundial y Panamericana de la Salud (OMS/OPS) se han propuesto la eliminación de la poliomielitis en el mundo. Esto significa erradicar la circulación del *Poliovirus* salvaje utilizando la inmunización antipoliomielítica oral de virus vivo atenuado (VOP) administrada a la población infantil de todo el mundo en forma de Programas Mantenedidos y Días Nacionales de Inmunización (DNI) por Campañas Masivas.

En 1985 la OPS puso en marcha la iniciativa de erradicar la poliomielitis en las Américas. En 1994, la Comisión Internacional para la Certificación de la Erradicación de la Poliomielitis

(CICEP) declaró que se había interrumpido la transmisión del *Poliovirus* salvaje en este continente, lográndose con un alto grado de cobertura de vacunación con VOP, unido a un sistema sensible de vigilancia epidemiológica.

Cuando se logre la erradicación de la poliomielitis en el mundo, la administración de la VOP podrá suspenderse siguiendo una adecuada estrategia, pero posteriormente se irá acumulando una población susceptible. Varios estudios sustentan que las cepas de *Poliovirus* vacunal al replicarse en el tracto gastrointestinal y circular entre la población, tienden a experimentar una reversión hacia las cepas salvajes que las originaron, entonces hay que determinar qué tiempo pueden circular y permanecer entre la población y en el medio ambiente las cepas de *Poliovirus* vacunal a partir de que se interrumpe la vacunación y si es tal la duración de este periodo de permanencia como para que se originen cepas "modificadas" a partir de las cepas vacunales empleadas y producir brotes epidémicos de la enfermedad en la población susceptible que se acumula meses después de concluido el uso de la VOP.

Cuba es el único país del mundo que con los estudios realizados puede brindar a la OMS/OPS un resultado que aclare tales interrogantes y sea trazada así la estrategia de discontinuar la administración de VOP a escala mundial, ya que a partir de que se inició la vacunación antipolio en 1962 con VOP en forma de campaña anual, hasta el presente ya suman 39 campañas y la población cubana menor de 50 años posee una cobertura vacunal mayor del 90% y no ha sido reportado ningún caso de parálisis infantil por el virus salvaje de la polio desde que se aplica la vacunación la cual ha ido acompañada siempre de un sólido programa de vigilancia con soporte de laboratorio, dando una vez más pruebas ante el mundo de ser un modelo de constancia en la salvaguarda de la salud humana.

Situación mundial de la poliomielitis

Antes de la inmunización, el *Poliovirus* tenía una amplia distribución mundial. Como resultado del empleo de las vacunas tanto inactivadas como atenuadas, se ha visto una disminución del número de países que presentan casos de poliomielitis. Estos van a concentrarse principalmente en los países en vía de desarrollo y con alta densidad de población.

En 1988, se reportó un total de 35 000 casos de polio en el mundo, pero se estima que gran número no fue informado, en 1991 el número de casos disminuyó en el 60% y la mayoría se concentraba en pocos países (Nigeria, Egipto, Pakistán, India, China y Viet Nam). En ese año fue reportado el último caso de polio en las Américas, se alcanzaba así un total de 120 países en el mundo, en los cuales no se reportaba polio desde 1991. En 1992, se observó un ligero aumento del número de casos debido a un incremento de esta enfermedad en la India, Malasia, Jordán y Holanda los cuales provinieron de la cepa salvaje de la India. El número de casos ha continuado disminuyendo con ligeros incrementos en algunos países por deficiencias en la campaña de vacunación, reapareciendo el *Poliovirus* en varios países. Durante 1995 se realizó un gran esfuerzo en la erradicación de la polio, instaurándose el DNI en 62 países, de los mismos, 25 participaban por primera vez, lográndose la vacunación de 300 000 000 de niños (la mitad de los menores de 5 años en el mundo).

Las estadísticas indican una tendencia a la disminución del número de reportes anuales de poliomielitis parálisis por virus salvaje de la polio en todo el mundo, pero hasta tanto no se alcance la cobertura vacunal completa de la población infantil mundial, no cesará la aparición de nuevos casos.

En Cuba los primeros reportes datan de 1878, pero el primer brote epidémico ocurrió en 1909, fundamentalmente en los menores de 4 años. Posteriormente la enfermedad continuó con un curso endémico y baja incidencia hasta 1934, que cambia su comportamiento epidemiológico, adquiriendo carácter endemo-epidémico con brotes intensos en algunos años, esto hizo cambiar el criterio de que la poliomielitis era rara en países tropicales y sobre todo en forma de epidemias. A partir del 1958, la incidencia de la enfermedad se incrementó progresivamente. Con el triunfo de la revolución en 1959 y el cambio de la política de salud, se inicia la aplicación de nuevas estrategias para el mejoramiento de la salud de la población, introduciéndose la vacunación contra la poliomielitis. En 1962 se realizó la primera campaña de inmunización, en niños de 0 a 14 años, utilizándose la vacuna de *Poliovirus* atenuada siguiendo la experiencia de los países exsocialistas, aplicándose en forma de campañas

masivas en dos dosis con un intervalo de 4 semanas entre estas, reportándose en este año la tasa más baja en 10 años. Después del 26 de mayo de 1962 no se reportó ningún caso de poliomielitis en el territorio nacional, lo que evidencia el magnífico resultado de esta campaña. Posteriormente se decidió continuar con la estrategia de vacunación en forma de campañas masivas, pero se realizaron cambios en las edades a vacunar, en el período de tiempo entre ambas dosis y en la formulación de la vacuna, todo esto al tomar en consideración los resultados de las encuestas seroepidemiológicas que se fueron realizando para conocer el estado inmunitario de la población. Desde 1962, hasta el presente los pocos casos de parálisis ocurridos son de origen vacunal y se han efectuado 39 campañas de vacunación masiva contra la poliomielitis, lo que garantiza que la población menor de 50 años haya recibido vacuna antipoliomielítica.

COXSACKIEVIRUS

Los *Coxsackievirus*, importante grupo de los *Enterovirus* se divide en dos grupos A y B con diferente potencial patógeno para los ratones recién nacidos. Producen un número amplio de enfermedades en el hombre, y en general tienden a ser más patógenos que los *Echovirus*.

Propiedades generales

Los *Coxsackievirus* son *Enterovirus* típicos (véase antes).

Susceptibilidad animal y crecimiento del virus

Los *Coxsackievirus* son muy infecciosos para los ratones recién nacidos. Los *Coxsackievirus* del grupo A producen miositis diseminada en los músculos esqueléticos de ratones recién nacidos, resultando en parálisis flaccida y en ocasiones no se observan otras lesiones. Los *Coxsackievirus* B producen una parálisis espástica, pueden causar miositis focal, encefalitis, esteatitis necrosante, miocarditis, endocarditis, hepatitis y pancreatitis. Los ratones normales toleran la infección con *Coxsackievirus* B, sin embargo, los desnutridos o inmunodeficientes son más susceptibles a la enfermedad. El chimpancé y el mono pueden sufrir infección subclínica; el *Coxsackie* A14 produce lesiones en ratones adultos y monos, parecidas a las causadas por *Poliovirus*; el *Coxsackie* A7 produce en monos parálisis y lesiones graves del sistema nervioso central.

Los *Coxsackievirus* A crecen muy poco en cultivo de tejidos, lo pueden hacer los *Coxsackievirus* A7, A9, A16 y A24. Los *Coxsackie* B si crecen bien en células susceptibles. Los cultivos celulares más usados para el aislamiento de ambos grupos son las células de riñón de mono, amnióticas humanas y fibroblastos de pulmón embrionario humano.

Propiedades antigénicas

Se conocen al menos 29 serotipos diferentes: 23 pertenece al grupo A y 6 corresponden al grupo B.

Patogenia

Es similar al resto de los *Enterovirus* (véase antes), localizándose finalmente en diferentes órganos susceptibles.

Datos clínicos

Los *Coxsackievirus* producen diversas manifestaciones clínicas, además en un brote en particular pueden vincularse diferentes serotipos; las entidades clínicas más frecuentes que producen son las siguientes:

1. Neurológicos.

- a) **Meningoencefalitis viral (MEV)**. Puede ser producida principalmente por los *Coxsackievirus* A7, A9 y por los todos los *Coxsackievirus* B, aunque predominan los *Coxsackie* B2, B3, B4 y B5, los síntomas son de aparición brusca y los más comunes son malestar general, fiebre, cefalea, vómitos, rigidez de nuca; casi siempre es de curso benigno y de corta duración, la recuperación se produce entre 5 y 7 días, son muy raras las secuelas, las epidemias suelen ser de difusión limitada y ocurren en cualquier parte del mundo; principalmente en la infancia, en Cuba en los últimos 10 años se han producido cinco brotes epidémicos de MEV por *Enterovirus*, 2 de ellos por *Coxsackievirus*.

2. Piel y mucosas.

- a) **Herpangina**. Es una faringitis viral severa, acompañada de fiebre, anorexia, vómitos, dolor abdominal, presencia de vesículas discretas en la faringe, paladar, amígdalas y lengua, es producida fundamentalmente por los *Coxsackievirus* A (tipos 2 a 6, 8 y 10), es una enfermedad autolimitada y es más frecuente en niños.
- b) **Enfermedad de mano-pie-boca**. Se caracteriza por úlceras bucofaringea y una erupción vesicular en palmas y plantas que puede extenderse a manos y piernas, las vesículas cicatrizan sin cicatrizar a diferencias de las del *Herpesvirus* o *Viruela*; esta enfermedad se relaciona fundamentalmente con el *Coxsackie* A 16, pero también se ha encontrado los tipos A4, A5, A7, A9, A10, el virus se puede recuperar del líquido vesicular; no debe confundirse con la enfermedad de pie y boca del ganado, producida por un *Picornavirus* no infectante para humanos.

3. Enfermedad cardíaca y muscular.

- a) **Pleurodinia (mialgia epidémica o enfermedad de Bornholm)**. Es provocada por los virus *Coxsackie* B, se inicia con fiebre, dolor torácico punzante y súbito, que se intensifica con el movimiento y puede durar 2 días, a veces es precedido de anorexia, malestar, cefalea y dolor abdominal; la enfermedad es autolimitada y la recuperación es total, a pesar de que puede haber recaídas.
- b) **Miocarditis**. Con mayor frecuencia la producen los *Coxsackie* del grupo B, consisten en una inflamación aguda del corazón y de las membranas que lo cubren (pericarditis), es de carácter grave tanto en adultos como en niños y puede causar daño permanente a cualquier edad, en los neonatos puede ser mortal, este grupo de virus son una de las causas de enfermedad miocárdica primaria en adultos; el ejercicio, el alcohol, la desnutrición, el embarazo y la hidrocortisona pueden agravar la enfermedad.

4. Ocular.

- a) **Conjuntivitis hemorrágica aguda**. La produce el *Coxsackie* A24 dentro de este grupo, se inicia súbitamente con hemorragia subconjuntival, que oscila entre pequeñas petequias hasta grandes manchas que cubren la conjuntiva bulbar, se producen epidemias, la recuperación es entre 8 y 10 días. En Cuba se han producido epidemias por *Coxsackievirus* A24 en 1986 y 1997.

5. Infecciones respiratorias. Los *Coxsackievirus* A21, A24, B1, B3 y B5 se han vinculado con el resfriado común.

6. Gastrointestinal. Aunque el sitio primario de replicación del virus es el aparato gastrointestinal, contradictoriamente no producen enfermedad notable en este, algunos *Coxsackievirus* A se han relacionado con diarrea infantil, sin demostrar aún la causalidad.

7. Otros.

- a) **Enfermedad febril indiferenciada (enfermedades estivales menores)**. Son brotes agudos de duración breve, se presentan durante el verano y otoño, sin características distintivas, se aíslan de estos pacientes fundamentalmente virus del grupo B.
- b) **Enfermedad generalizada del lactante o enfermedad neonatal**. Producida por los *Coxsackievirus* B, es sumamente grave, el lactante presenta letargo, dificultad para deglutir, vómitos y a veces fiebre, presenta infecciones virales simultáneas de múltiples órganos; puede ser rápidamente mortal o el paciente recuperarse totalmente, se puede adquirir a través de la placenta.
- c) **Diabetes mellitus tipo 1 (diabetes insulino dependiente)**. Se ha visto asociación entre esta enfermedad y la infección previa por algunos *Enterovirus*, específicamente con los *Coxsackievirus* B3 y B4, la hipótesis establece que el "mimetismo molecular"

es la causa de una respuesta autoinmunitaria inducida por un virus, destruya las células β pancreáticas. Se han observado secuencias similares entre un tramo de la proteína P2-C de los *Coxsackievirus* B y la enzima ácido glutámico descarboxilasa de las células humanas β , blanco de la autoinmunidad en la diabetes tipo 1.

- d) **Síndrome de fatiga crónica (fatiga posviral).** Hay evidencias de una posible relación entre esta enfermedad y la infección con los *Coxsackievirus* B, el paciente presenta fatiga incapacitante de curso prolongado (6 meses o más) sin causa física identificable.
- e) **Enfermedad vesicular porcina.** La produce un *Enterovirus* antigénicamente vinculado con el *Coxsackievirus* B5, el virus porcino también puede afectar a los humanos.

Tratamiento

No hay tratamiento específico, es sintomático.

Diagnóstico de laboratorio

Es muy similar al de los *Poliovirus* (véase antes) con algunas particularidades.

1. Métodos de aislamiento.

a) Toma de muestras.

Las heces son las más útiles y representativas para el aislamiento viral, para cualquier tipo de enfermedad que se sospeche etiología enteroviral, LCR en casos de MEV si la muestra se toma en los primeros 3 días que siguen al inicio de los síntomas y se deben congelar y trasladar al laboratorio en esta forma e inocular tan pronto sea posible. Los exudados faríngeos son tomados durante los primeros 7 días de la enfermedad. El exudado conjuntival en casos de conjuntivitis debe ser tomado al inicio de los síntomas, aunque también puede tomarse heces y exudado faríngeo.

b) Inoculación.

Las muestras obtenidas se inoculan en los sistemas biológicos susceptibles. El aislamiento en cultivo de células es el método de elección para hacer el diagnóstico (véase antes). Para el aislamiento de varios tipos de *Coxsackievirus* A que no crecen en cultivo de tejidos, está indicada la inoculación de ratones recién nacidos de no más de 1 día por vía intracerebral, intraperitoneal o subcutánea, los signos de enfermedad deben aparecer entre 3 y 8 días con las cepas del grupo A y de 5 a 14 días con las del grupo B.

c) Identificación.

La identificación específica de serotipo depende de la prueba de neutralización (Nt) (véase antes). Pueden hacerse necesarias pruebas de neutralización en ratones en los casos donde el virus no se replique en cultivos.

2. Métodos serológicos.

La serología es importante para confirmar el diagnóstico. Se comparan los títulos de anticuerpos obtenidos durante la fase aguda de la enfermedad con sueros colectados de 14 a 21 días después, en la fase convaleciente. Las técnicas que más se emplean son la Nt del ECP por punto final, el Test de reducción de placas, la fijación del complemento (FC') y los métodos de precipitación. Las reacciones serológicas de neutralización son muy laboriosas dado el gran número de *Enterovirus*; cuando se aísla el virus del enfermo pueden realizarse usando el virus como antígeno, o si se trata de un cuadro clínico específico, limitarse a los serotipos posibles causantes del cuadro. También se emplean métodos inmunoenzimáticos (ELISA) para la determinación de anticuerpos IgM o IgG en el suero y la inmunofluorescencia indirecta (IFI) fundamentalmente en casos de conjuntivitis.

3. Métodos de diagnóstico rápido.

Actualmente son empleadas varias técnicas de diagnóstico rápido que viabilizan el diagnóstico y la caracterización de cepas (véase antes) como las técnicas de biología molecular, la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) y la hibridación, ambas para detectar el ácido nucleico viral en LCR, HF y cultivo celular y la detección de anticuerpos IgM por técnicas de Western blot.

Inmunidad

Como consecuencia de la infección enteroviral, se produce un aumento inmediato de la inmunidad local intestinal (IgA). Más tarde aparecen anticuerpos séricos (IgM e IgG) que neutralizan el virus durante la fase virémica, pero no afectan al virus cuando se encuentra en los órganos de replicación (bazo, hígado, etc.) La inmunidad es tipo específica y de larga duración o permanente, cuando se debe a anticuerpos neutralizantes (AcNt); estos anticuerpos aparecen pronto en el curso de la infección. Los anticuerpos fijadores del complemento (AcFC') muestran reacciones cruzadas y desaparecen a los 6 meses. También algunos *Enterovirus* pueden inducir anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación. Los anticuerpos maternos transferidos al feto pasivamente, protegen al niño durante los 6 primeros meses de vida.

En los países con deficientes condiciones higiénico-sanitarias, los niños adquieren inmunidad a estos virus en los primeros años de vida. Los adultos tienen anticuerpos contra un mayor número de tipos de *Enterovirus* que los niños, debido a los múltiples contactos con estos agentes.

La producción de AcNt en respuesta a la infección por *Enterovirus* requiere de la cooperación de los linfocitos T y B. La respuesta inmune celular ha sido muy estudiada en los últimos años; la inmunidad mediada por linfocitos T, desempeña una función en la inmunopatología de algunas infecciones crónicas por *Enterovirus*. Estos virus también inducen la producción de interferón en el organismo.

Epidemiología de los *Coxsackievirus*

Tiene aspectos comunes a los *Poliovirus*

1. Distribución. La distribución es mundial y una circulación característica en forma de "oleadas", o sea el tipo predominante en un brote es sustituido por otro en los brotes posteriores. Cuando un serotipo emerge como cepa dominante durante algunos años, entonces puede declinar y reaparecer en epidemias en años después.
2. Estacionalidad. Varían en sus patrones de circulación de acuerdo con la localización geográfica, en áreas tropicales y subtropicales circulan todo el año y en algunos países se presentan algunos tipos como endémicos. En áreas templadas se producen picos epidémicos en verano y otoño, aunque pueden ocurrir infecciones esporádicas todo el año. En ambas zonas geográficas varios *Enterovirus* pueden circular simultáneamente.
3. Reservorio. El único reservorio conocido es el hombre.
4. Edad, sexo y raza. La edad es determinante en la susceptibilidad, manifestaciones clínicas, severidad y recuperación de la infección por *Enterovirus*. En los niños y adolescentes son más frecuentes estas infecciones, y la primoinfección se produce, generalmente, antes de los 5 años. En cuanto al sexo, las enfermedades por estos virus son más frecuentes en el sexo masculino que en el femenino. La raza no es un factor importante en estas infecciones, pero algunos autores describen que son más frecuentes en la raza blanca.
5. Periodo de incubación. Entre 2 y 9 días, en el caso del *Coxsackievirus* A24 es de 24 h.
6. Vías de transmisión. La más importante de transmisión es la fecal-oral, el contacto con objetos, alimentos y aguas contaminadas también transmiten la infección. Las moscas y las cucarachas pueden ser transmisores mecánicos de los virus. Otra vía importante es la transmisión de persona a persona por vía respiratoria y en el caso de las conjuntivitis a través de la conjuntiva. La transmisión entre los contactos, fundamentalmente familiares y escolares es muy frecuente y se ve favorecida por el hacinamiento y las malas condiciones higiénico-sanitarias.

Profilaxis y control

No hay vacunación para estos virus. Como medidas de control se recomiendan:

1. Mejoramiento de las condiciones higiénico-sanitarias (cloración del agua, eliminación de excretas y desechos, etc.).

2 Evitar el contacto de niños de corta edad con personas con enfermedad febril, especialmente acompañadas de exantema.