

Determinantes de patogenicidad en el virus de influenza pandémico en México: Factores virales asociados con la severidad

*Fidencio Mejía-Nepomuceno, Fernando Martínez-Maldonado, Rogelio Pérez-Padilla,
Joel Armando Vázquez-Pérez* 

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Ciudad de México, México.

RESUMEN. El virus de influenza causa por lo común infecciones estacionales y ocasionalmente pandemias, provocando un aumento en la morbilidad y mortalidad de las enfermedades respiratorias en los humanos. El virus de influenza tiene la habilidad de adaptarse a varios hospederos, circulando de manera normal y constante en aves acuáticas, aves de corral, cerdos, caballos y humanos. La interacción de diferentes subtipos virales en estos hospederos puede generar nuevas variantes. Aunado a esto se presentan de forma natural mutaciones puntuales en todos los genes del virus, que pueden conferir ventajas en la replicación viral, adaptación, así como en la evasión del sistema inmunológico, emergiendo variantes virales con la probabilidad de ser más patogénicos. Caracterizar los determinantes de patogenicidad permite monitorear y detectar de manera temprana aquellas posibles cepas que puedan generar una amenaza en la población humana, contribuyendo con esto en la identificación molecular de los posibles cambios en el genoma del virus de influenza, correlacionándola con la virulencia y la patogenicidad del virus.

Palabras clave: Determinantes de patogenicidad, influenza H1N1pdm09, caracterización.

Determinants of pathogenicity in pandemic influenza virus in Mexico: viral factors associated with severity

ABSTRACT. The influenza virus often causes seasonal infections and occasionally pandemics which increase the level morbidity and mortality of respiratory diseases in humans. The influenza virus is capable of adapting to several hosts while circulating in a normal and constant manner in aquatic birds, poultry, pigs, horses and humans. Interaction between different viral subtypes in these hosts can generate new variants. In addition, point mutations naturally occur in all genes of the virus, which may confer advantages to viral replication, adaptation and evasion of the immune system, and allow viral isolates the probability of being more pathogenic. Characterization of the determinants of pathogenicity, allow monitoring and detecting possible strains at an early stage that may pose a threat to the human population. This will also contribute to identify possible molecular changes in the influenza virus genome, and to correlate these changes to the virulence and pathogenicity of the virus.

Key words: Determinants of pathogenicity, influenza A H1N1pdm09, characterization.

VIRUS DE INFLUENZA

El virus de influenza pertenece a la familia *Orthomyxoviridae*, su genoma está constituido por RNA de cadena sencilla de sentido negativo; el genoma está segmentado en ocho partes, cada una de ellas codifica para una o dos proteínas. El segmento 1 codifica para la

proteína básica 2 (PB2); el 2 codifica para proteína básica 1 (PB1); el 3 codifica para la proteína ácida (PA), estas tres forman el complejo de polimerasa viral. El 4 codifica para la hemaglutinina (HA); el 5 codifica para la nucleoproteína (NP); el 6 codifica para la neuramidasa (NA). Los últimos segmentos codifican dos proteínas, el 7 codifica para la proteína de matriz (M1) y para la proteína de canal iónico (M2); el segmento 8 para la proteína no estructural (NS1) y la proteína de exportación nuclear NS2/NEP.¹

El virus de influenza se clasifica en subtipos basados en las diferencias en las características genéticas y antigenéticas de la HA y la NA. La hemaglutinina del virus (HA) es la proteína que reconoce

Autor para correspondencia:

Dr. Joel Armando Vázquez-Pérez, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Ciudad de México, México.

Correo electrónico: joevazpe@gmail.com

Trabajo recibido: 8-X-2018; aceptado: 30-X-2018

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medicographic.com/neumologia>

a su receptor celular, el ácido siálico que se expresa en humanos en las células del epitelio de vías respiratorias bajas (ácido siálico α -2,3) y de vías respiratorias altas (ácido siálico α -2,6). La NA, por otro lado, es importante para la liberación de las nuevas partículas virales formadas al final del ciclo de replicación del virus. La mayoría de los medicamentos antivirales contra influenza están diseñados para inhibir la actividad de esta proteína.² Hasta hoy se han encontrado 18 HA y 11 NA.³

El virus de influenza circula en muchos hospederos como son aves, caballos, cerdos y humanos, generando con ello rearreglos en el genoma del virus (*Shift* antigenético), creando nuevas variantes. Además, debido a que el virus presenta una alta tasa de mutación se generan cambios en la secuencia nucleotídica en cualquiera de las proteínas del virus (*Drift* antigenético o deriva génica).⁴ Estos cambios pueden conferir ventajas en distintos puntos del ciclo de replicación viral, también pueden mejorar la evasión de la respuesta inmunológica innata y adaptativa, consiguiendo con estas mutaciones la probabilidad de ser más virulento o patogénico en los seres humanos. Estos cambios se conocen como determinantes de patogenicidad.⁵

DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD EN EL VIRUS INFLUENZA

La patogenicidad del virus de influenza es considerada como multigénica y esto está determinado por la gamma de genes que el virus tiene en su genoma y de la interacción con las células en un determinado hospedero. Las mutaciones genéticas o las sustituciones específicas en determinados nucleótidos del virus en cada segmento pueden alterar su función.⁶ Dando ventajas al virus en diferentes pasos del ciclo de replicación incluyendo la unión del virus y la célula, la endocitosis, la transcripción, traducción, el ensamblado del virión y la liberación de las nuevas partículas virales.⁷ Estos cambios pueden ocurrir en la proteína viral más inmunogénica: la HA, de esta forma pueden alterar el reconocimiento de la respuesta inmune innata y adaptativa.⁸ Así, estos determinantes pueden contribuir a un aumento de la patogenicidad del virus de influenza (tabla 1).⁵

Debido a la importancia que tienen estos determinantes de patogenicidad virales en la enfermedad respiratoria, nuestro grupo de investigación ha llevado a cabo diversos trabajos encaminados a caracterizar de forma molecular el virus de influenza pandémico

Tabla 1. Determinantes de patogenicidad reconocidos en el virus de influenza.

Gene	Subtipo-cepa (modelo)	Sustitución	Efecto	Referencia
HA	H1N1pdm09 (humano)	222G 190E	Causa cambio de afinidad, humano a aviar. 222D, 190D humano, 222G, 190E aviar	Stevens <i>et al.</i> 2004 ⁹⁻¹¹
	H3N2 (humano)	228G 226Q	Cambio de tropismo células aviares a humanas	
PB2	H5N1 (aves y ratón)	E627K	Determinante de rango de hospedero, cepas aviares 627E, cepas humanas 627K	Hatta M <i>et al.</i> 2001 ¹² Hatta M <i>et al.</i> 2007 ¹³ Mase M <i>et al.</i> 2006 ¹⁴ Steel J <i>et al.</i> 2009 ¹⁵
	H1N1/1918 (humano y aves)	K627E		
	H7N7 (ratón)	D701N	Modula la actividad de la polimerasa en células aviares y de mamíferos	
PB1-F2	H5N1 (ratón) H1N1/1918 (ratón)	S66N	Aumento en patogenicidad y la replicación viral. Incrementa la actividad de la polimerasa y unión a PB1	Conenello GM <i>et al.</i> 2007 ¹⁸ Hai R <i>et al.</i> 2009 ¹⁹
NS1	H5N1 (ratón)	D92E	Reducción de los niveles de IFN α y β	Seo SH <i>et al.</i> 2002 ²⁰ Twu KY <i>et al.</i> 2007 ²¹ Hale <i>et al.</i> 2010 ²²
	H1N1 (cerdo)	P42S	Impide la activación de los factores de transcripción que inducen interferón	
	H5N1 (ratón)	L103F	Inhibe producción de RNAm celulares	
NA	H1N1 (humano)	I106M		Ives <i>et al.</i> 2002 ²³
	H5N1 (ratón)	G189D	Incremento de la patogenicidad	
NA	H1 (humano)	H274Y	Resistencia a antivirales (oseltamivir)	

La tabla muestra las proteínas virales donde más frecuentemente se han reportado determinantes de patogenicidad. Se especifica en qué subtipo de influenza se encuentra y las sustituciones con su función respectiva.

en México. La presente revisión es un recuento de los resultados obtenidos desde la aparición del nuevo virus hasta el año 2017.

Emergencia de un nuevo virus de influenza: H1N1 pandémico (H1N1pdm09)

Antes de la aparición del virus pandémico, los subtipos de influenza A prevalentes eran el H1N1 denominado estacional y el H3N2. Mientras que el H1N1 estacional permaneció desde la pandemia de 1977 en Rusia, Hong Kong y en el norte de China, el subtipo H3N2 surgió en la pandemia de 1968 y aún circula junto con el virus pandémico. Además de estos subtipos, anteriormente hubo pandemias provocadas por el virus H1N1 de 1918 y H2N2 en 1957.²⁴ El más letal fue el virus H1N1 de 1918 causando un estimado de 40 a 50 millones de muertes, mientras que el H2N2 causó de 2 a 4 millones de decesos y H3N2 ha causado 1 a 2 millones de defunciones.²⁴

El virus pandémico H1N1pdm09 se originó de múltiples rearreglos de virus de influenza de diferentes hospederos, tanto aviares, porcinos y humanos. De sus 8 ARN, 2 genes de polimerasa, PB2 y PA provienen del virus aviar de linaje norteamericano y se introdujeron en poblaciones porcinas en 1998. El otro gen de la polimerasa el PB1, recién evolucionó de un virus de influenza estacional humana (H3N2) alrededor del mismo año y se sabe que este PB1 se originó de un virus aviar que entró en humanos en 1968. La HA, la NP y los genes de las proteínas no estructurales (NS1 y NS2) descendieron directamente del virus de influenza porcina clásica del linaje norteamericano que se remonta al virus de 1918. Los dos genes restantes, la NA y la proteína de matriz (M) se originaron del virus porcino euroasiático, los cuales a su vez provinieron de las aves alrededor de 1979.²⁵

Caracterización de determinantes de patogenicidad del virus H1N1pdm09 en México 2009: el brote inicial

En México, a fines de marzo del 2009 se identificó un brote de una enfermedad respiratoria como resultado de un nuevo virus de la influenza A. Se describieron con base en las características clínicas y epidemiológicas de las personas hospitalizadas como casos de neumonía grave.²⁶ En la Ciudad de México, en los meses de marzo y abril del 2009 se incrementaron los casos de neumonía atípica en todos los centros de salud.²⁷ El día 11 de junio del 2009 la alerta pandémica emitida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) pasó de una fase 5 a fase 6. El virus de influenza pandémico H1N1pdm09 generó 343,298 casos confirmados con

4,108 defunciones confirmadas mundialmente,²⁸ pero un número estimado mucho mayor de enfermos y muertos.

Nuestro grupo de trabajo recolectó 751 muestras del 1º al 5 de mayo del 2009 en las 16 delegaciones políticas (hoy llamadas alcaldías) de la Ciudad de México, donde 203 de los 751 pacientes fueron positivos para influenza H1N1pdm09 y donde se encontraron cinco nuevas variantes de influenza para este virus en la NA, las cuales tenían cambios en los aminoácidos G249E, M269I, Y274H, T332A, y N344K y cuatro para HA: N461K, K505R, I435V y I527N. Este trabajo fue el primero realizado en México que caracterizó de forma molecular el virus prevalente en nuestro país. La importancia biológica de estas variantes no se conoce, pero podrían ser sólo sustituciones causadas por el fenómeno natural de deriva génica (*Drift* antigénico). Ninguno de estos cambios se ha asociado a un determinante de patogenicidad establecido.^{5,6,29}

Aparición de la substitución D222G en la proteína viral HA asociada con gravedad de la influenza (2010)

Después del primer brote causado por este nuevo virus, se presentó una segunda ola de casos durante el mes de agosto de 2009 y hasta el mes de marzo de 2010, del cual fueron obtenidas algunas secuencias virales.¹⁰ Se halló una alta prevalencia del virus pandémico con variantes en el codón 222 de la HA sólo en pacientes con desenlaces graves o fatales en la Ciudad de México.

Este estudio se realizó con 77 pacientes positivos para virus pandémico, 50 de éstos fueron pacientes hospitalizados y 27 ambulatorios. Los virus de 14 de los 50 pacientes hospitalizados (28%) tenían en la posición 222 de la HA un aminoácido diferente al silvestre (D = ácido aspártico). Se encontraron diferentes cambios de aminoácidos en esta posición incluyendo coexistencia, es decir, la presencia de dos o más virus con diferentes aminoácidos en esta posición (quasiespecies). El cambio al aminoácido glicina (G222) se detectó como única especie o en coexistencia con asparagina N222 y el silvestre D222 en 12 pacientes con enfermedad grave incluidos ocho que fallecieron. También hubo otras combinaciones, se detectó la coexistencia de alanina A222 y valina V222, junto con el silvestre D222 en un paciente que murió y la coexistencia de N222 y D222 en otro paciente que también falleció. Los pacientes con un residuo diferente al silvestre D222 tuvieron una mayor mortalidad (71.4%) en comparación con el grupo que sólo presentaba D222 (22.2%). Ninguno de los 27 pacientes ambulatorios tenía variaciones en esta misma posición. Cuatro de los 14 virus de pacientes hospitalizados se cultivaron

y se infectaron intranasalmente en ratones, donde dos virus con G222 fueron letales, mientras que un tercer virus, con G222 sólo causó una enfermedad leve similar al cuarto virus que contenía D222. Este determinante de patogenicidad se ha asociado con la adquisición de la afinidad por el ácido siálico α -2,3 y que aumenta la infección de las células epiteliales en la vía respiratoria inferior (figura 1).³⁰

Los resultados obtenidos apoyan la observación de que la sustitución en la posición 222 principalmente glicina en la HA se asocia con mayor patogenicidad del virus de influenza A H1N1pdm09. Con los resultados encontrados en México y aunado a lo ya reportado en otros países como Noruega, Estados Unidos, Grecia, Italia, Alemania y China, entre otros,³¹⁻³⁵ se apoya la consideración de que estos cambios en esta posición están asociados con la gravedad de la enfermedad. Asimismo, los trabajos realizados en modelos murinos apoyan también que la presencia de esta sustitución aumenta la patogenicidad del virus de influenza pandémico.^{36,37} Datos recientes confirmaron un aumento en la mortalidad general en México durante la pandemia asociándola a causas respiratorias y cardiovasculares, específicamente en individuos jóvenes y de mediana edad.³¹ Cabe la posibilidad de que factores virales pueden afectar el curso clínico de la enfermedad y que no se han descrito en su totalidad.¹⁰

Aparición de mutaciones dentro o adyacentes a los principales sitios inmunogénicos de la HA (2011-2012)

A partir del año 2010 la aparición del virus de influenza pandémico tuvo un comportamiento bianual y el siguiente brote ocurrió en la temporada 2011-2012.³⁸ Se realizó la caracterización molecular del virus de influenza con muestras de pacientes del 24 de diciembre del 2011 al 14 de febrero del 2012.

A partir del 24 de diciembre se inició la detección de influenza A H1N1pdm09 en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER) de la Ciudad de México en un niño de 9 años con una exacerbación aguda de asma. En esa semana comenzaron a aparecer más casos y las autoridades sanitarias alertaron a la población acerca de una posible reemergencia del virus de influenza A H1N1pdm09. Se estudiaron 205 pacientes de esta temporada, 95 de ellos (45%) fueron positivos para influenza H1N1pdm09. Del total de casos sospechosos, 25 de ellos (22%) habían sido vacunados contra influenza y de los casos confirmados 17 (18%) habían sido vacunados. Se caracterizó de forma molecular el virus de esta temporada y se encontraron cambios en algunos segmentos virales; *v. gr.*, T20I en PB1 y S69T, K163R, N260D en HA, siendo estos cambios exclusivos de los aislados virales de México

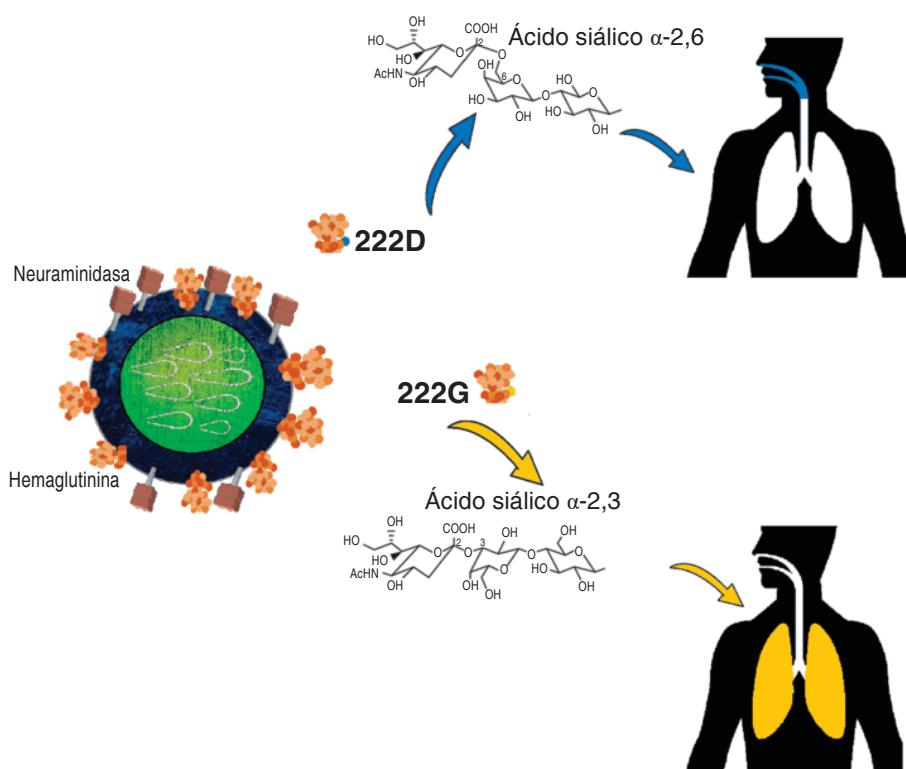


Figura 1.

Sustitución D222G en la hemaglutinina (HA) del virus de influenza como determinante de patogenicidad. El virus de influenza presenta en su membrana dos proteínas exteriores: la neuramidasa (NA) y la hemaglutinina (HA), esta última es la encargada de la unión a su receptor celular al ácido siálico. El aminoácido nativo ácido aspártico (D) confiere tropismo al ácido siálico α -2,6 presente principalmente en el tracto respiratorio superior (flechas color azul). La sustitución de glicina (G) confiere afinidad por el ácido siálico α -2,3 que aumenta la infección de las células epiteliales en el tracto respiratorio inferior (flechas de color amarillo) y, por lo tanto, se asocia a mayor patogenicidad de la enfermedad respiratoria.

Imagen a color en: www.mediaphic.com/neumologia

Tabla 2. Sustituciones de aminoácidos en los sitios antigenicos de HA de los aislamientos mexicanos de influenza A H1N1 2009-2017.

	69	138	143	162	163	183	185	203	222	260
2009-2010	S	H	S	S	K	S	S	S/T	D/N/G	N
2011-2012	T	H	G	S	K/R	S	T	T	D	D
2013-2014	S	H/Q	S	S	Q	S	T	T	D	N
2015-2016	S/P	H	S	S/N	Q	S/P	T	T	D	N
2016-2017	S	H	S	N	Q	S/P	T	T	D/N/G	N

Se muestran las secuencias de aminoácidos para la región antigenica de la HA de los aislados mexicanos del 2009-2017. Las posiciones de los aminoácidos se numeran sin considerar el péptido señal de la HA. Las sustituciones de aminoácidos en los aislados mexicanos están marcadas en sus sitios antigenicos en color rojo para Cb, marrón para Sb, verde para Ca y azul para Sa.

del 2012 y presentaron mayor homología con cepas de Asia, lo que indica que éste pudo ser su posible origen.³⁹ Algunos cambios en la HA (S69T, S143G y A197T) se presentaron adyacentes o dentro de los principales sitios inmunogénicos, posiblemente afectando la antigenicidad del virus (tabla 2). Esto puede generar menor reconocimiento del sistema inmunológico, afectando la eficacia de la vacuna. Estos hallazgos aportan datos útiles sobre la vigilancia epidemiológica y de evolución del virus pandémico H1N1pdm09 en nuestro país.³⁹

Aparición de la sustitución K163Q, cambio en la HA viral que evita la unión de anticuerpos desarrollados en un gran número de personas de mediana edad (2013-2014)

Para continuar con la caracterización molecular del virus de influenza H1N1pdm09 nuestro grupo de trabajo analizó la evolución del virus pandémico durante el siguiente brote de la temporada 2013-2014. Se analizaron 50 muestras de hisopados nasofaríngeos y se secuenció el genoma completo, se compararon con secuencias consenso y con secuencias de diferentes partes del mundo para detectar mutaciones que podrían estar asociadas con la evolución viral o cambio en la antigenicidad del virus. Es importante mencionar que las secuencias se obtuvieron directamente de muestras clínicas para evitar la selección artificial *in vitro*. El mapeo de las sustituciones en sitios antigenicos en HA tuvo diferentes patrones de cambio durante las temporadas de invierno 2009-2014. Las sustituciones de HA S69T, S143G, A197T, N260D y V520A fueron las mutaciones dominantes durante 2011-2012, pero no lo fueron en la temporada de influenza 2013-2014. Otras en cambio fueron dominantes en los años 2011-2012 y permanecieron hasta el 2014, las mutaciones fueron las S185T, E374K, S451N y E499K.

Por otro lado, las sustituciones K163Q, A256T y K283E fueron dominantes en el virus de la influenza en

Méjico durante 2013-2014, cabe señalar que la sustitución en el sitio K163Q se localiza dentro de la región antigenica Sa de la HA. Otro hallazgo importante es que los aislamientos mexicanos del 2013-2014 mantuvieron un patrón de glicosilación similar al virus California 2009 en las posiciones 27, 28, 40, 104, 293, 304, 498 y 557. Se detectaron otras mutaciones en otros segmentos, V344M e I354L en PB2 y N321K en PA, I397M, I435T en PB1, S498N en NP, N44S, V241L, N369K en NA V80I en M1 y L90I en NS1 y junto con las sustituciones de HA aparecieron juntas en esta temporada evidenciando una evolución conjunta de los segmentos en el virus de la influenza pandémico. Además, encontramos otras sustituciones únicas en PB2 como son G644R y T676I, PB1 A374T, HA H138Q, NA Q308L y L36I en NS1 en cepas mexicanas del período 2011-2014 que podrían mostrar una divergencia geográfica con respecto a otros aislados del mundo.⁴⁰

Linderman *et al.* realizaron diversos estudios con sueros de pacientes y modelo animal para conocer la importancia de la sustitución K163Q que se encuentra en el sitio inmunogénico Sa de la HA. Esta mutación fue predominante en la temporada 2013-2014 y no se encuentra en la cepa de la vacuna A/california/7/2009 H1N1pdm. Basado en este estudio, empleando sueros de pacientes se concluyó que personas nacidas entre 1965 y 1979 poseen anticuerpos que reconocen esta región de HA. Sin embargo, esta mutación enmascara los sitios de reconocimiento de los anticuerpos y son incapaces de reconocer al virus H1N1pdm09. De esta forma se explica que esta parte de la población sea más susceptible de ser infectada por influenza virus en esta temporada.⁴¹

La sustitución S162N introduce un nuevo sitio de glicosilación en la HA viral

Siguiendo con el comportamiento bianual, en la temporada invernal 2015-2016 el virus pandémico fue el

virus predominante, causando infecciones respiratorias graves. Un evento relevante fue la aparición del virus pandémico un año después 2016-2017, mientras que en todo el hemisferio norte el virus predominante fue el subtipo H3N2. Para conocer los factores virales que están implicados en este comportamiento atípico, seguimos caracterizando de forma molecular el virus de influenza «*observaciones no publicadas*». El hallazgo principal es la aparición de una nueva sustitución en la región antigénica Sa, S162N que introduce un nuevo sitio de glicosilación. Este nuevo sitio de glicosilación apareció en el virus pandémico a nivel mundial incluyendo nuestro país «*observaciones no publicadas*», afectando la eficiencia de la vacuna, la cual contenía la cepa California 2009. Debido a esto la OMS recomendó la inclusión de otra cepa vacunal (Michigan 2015), la cual tiene la sustitución S162N.⁴²

CONCLUSIONES

La vigilancia epidemiológica de tipo molecular es indispensable para conocer los cambios que suceden en los genomas de los virus respiratorios. Dado su naturaleza biológica surgirán virus con sustituciones o cambios en su genoma que le confieran ventajas en su replicación y en su patogenicidad. Cabe señalar que la vigilancia epidemiológica incluye otros subtipos como el H3N2; sin embargo, la presencia de este subtipo en las diferentes etapas invernales después de la pandemia sólo se han asociado en general con una enfermedad respiratoria moderada.⁴³ Esto se ve reflejado en un menor número de ingresos al INER y el menor uso de ventilación mecánica asistida. Lo más relevante del subtipo H3N2 es la alta tasa de mutación que presente este virus y que se ve reflejado en una baja eficiencia de la vacunación.⁴⁴ En contraste, en Estados Unidos los años de predominio de H3N2 se acompañan de una enfermedad más grave, debido quizás a la baja protección de la vacuna que puede llegar a valores menores del 20% de protección en adultos mayores de 65 años.⁴⁵

Las metodologías moleculares como la secuenciación de nueva generación y la bioinformática son herramientas poderosas que nos arrojan información precisa y completa de los genomas virales. Con estas herramientas hemos caracterizado de forma molecular el virus de influenza pandémico desde su aparición en 2009. Esta información nos ha permitido conocer los cambios en el genoma del virus en todos sus proteínas y principalmente la HA viral que es de gran importancia debido a que es la encargada del reconocimiento del receptor celular y es donde se encuentran los sitios más inmunogénicos. Los principales cambios encontrados son las sustituciones K163Q y S162N, las cuales han

afectado la eficacia de la vacuna y han provocado el cambio de la cepa vacunal California 2009 por la de Michigan 2015 que tiene estos cambios. Además de detectar estas sustituciones en los aislados mexicanos, también documentamos la presencia de determinantes de patogenicidad en los virus de influenza de pacientes que cursaron con enfermedad respiratoria grave. El principal determinante fue la mutación D222G que confiere un tropismo a células epiteliales de vías respiratorias bajas y una mayor patogenicidad. Aparte de este determinante se detectó una inserción en la proteína involucrada en la evasión de la respuesta inmunológica innata. Esta inserción la observamos en aislados de la temporada 2017 y aún no se conoce su importancia biológica.

La influenza sigue siendo un riesgo importante para la salud y puede ser prevenible; sin embargo, la inmunización debe cubrir la mayoría de la población y la vacuna debe administrarse antes de la temporada de invierno. Conjuntamente, debe contener un virus similar de forma inmunogénica al virus prevalente en la población. El más claro ejemplo es la aparición del nuevo sitio de glicosilación en la HA viral (S162N) en el año 2015 y que forzó a la OMS a sustituir la cepa vacunal California 2009 por la Michigan 2015.⁴² Hasta ahora el virus de influenza pandémico continúa causando brotes severos, quizás también a variantes de los virus presentes en las diferentes temporadas invernales en México. Estas variantes son posibles marcadores de patogenicidad y deben ser monitoreados.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Szewczyk B, Bieńkowska-Szewczyk K, Król E. *Introduction to molecular biology of influenza A viruses*. Acta Biochim Pol 2014;61(3):397-401.
2. Medina RA, García-Sastre A. *Influenza A viruses: new research developments*. Nat Rev Microbiol 2011;9(8):590-603. doi: 10.1038/nrmicro2613.
3. Wu Y, Wu Y, Tefsen B, Shi Y, Gao GF. *Bat-derived influenza-like viruses H17N10 and H18N11*. Trends Microbiol 2014;22(4):183-191. doi: 10.1016/j.tim.2014.01.110.
4. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. *Evolution and ecology of influenza A viruses*. Microbiol Rev 1992;56(1):152-179.
5. Tscherne DM, García-Sastre A. *Virulence determinants of pandemic influenza viruses*. J Clin Invest 2011;121(1):6-13. doi: 10.1172/JCI44947.
6. Arias CF, Escalera-Zamudio M, Soto-Del Río Mde L, Cobián-Güemes AG, Isa P, López S. *Molecular anatomy*

- of 2009 influenza virus A (H1N1). *Arch Med Res* 2009;40(8):643-654. doi: 10.1016/j.arcmed.2009.10.007.
7. Xu L, Bao L, Zhou J, et al. *Genomic polymorphism of the pandemic A (H1N1) influenza viruses correlates with viral replication, virulence, and pathogenicity in vitro and in vivo*. *PLoS One* 2011;6(6):e20698. doi: 10.1371/journal.pone.0020698.
 8. Ilyushina NA, Khalenkov AM, Seiler JP, et al. *Adaptation of pandemic H1N1 influenza viruses in mice*. *J Virol* 2010;84(17):8607-8616. doi: 10.1128/JVI.00159-10.
 9. Stevens J, Corper AL, Basler CF, Taubenberger JK, Palese P, Wilson IA. *Structure of the uncleaved human H1 hemagglutinin from the extinct 1918 influenza virus*. *Science* 2004;303(5665):1866-1870. doi: 10.1126/science.1093373.
 10. Vazquez-Perez JA, Isa P, Kobasa D, et al. *A (H1N1) pdm09 HA D222 variants associated with severity and mortality in patients during a second wave in Mexico*. *Virol J* 2013;10:41. doi: 10.1186/1743-422X-10-41.
 11. Kilander A, Rykkvin R, Dudman SG, Hungnes O. *Observed association between the HA1 mutation D222G in the 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus and severe clinical outcome, Norway 2009-2010*. *Euro Surveill* 2010;15(9).pii: 19498.
 12. Hatta M, Gao P, Halfmann P, Kawaoka Y. *Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses*. *Science* 2001;293(5536):1840-1842. doi: 10.1126/science.1062882.
 13. Hatta M, Hatta Y, Kim JH, Watanabe S, et al. *Growth of H5N1 influenza A viruses in the upper respiratory tracts of mice*. *PLoS Pathog* 2007;3(10):1374-1379. doi: org/10.1371/journal.ppat.0030133.
 14. Mase M, Tanimura N, Imada T, Okamatsu M, Tsukamoto K, Yamaguchi S. *Recent H5N1 avian influenza A virus increases rapidly in virulence to mice after a single passage in mice*. *J Gen Virol* 2006;87(Pt 12):3655-3659. doi: 10.1099/vir.0.81843-0.
 15. Steel J, Lowen AC, Mubareka S, Palese P. *Transmission of influenza virus in a mammalian host is increased by PB2 amino acids 627K or 627E/701N*. *PLoS Pathog* 2009;5(1):e1000252. doi: 10.1371/journal.ppat.1000252.
 16. Gabriel G, Herwig A, Klenk HD. *Interaction of polymerase subunit PB2 and NP with importin alpha1 is a determinant of host range of influenza A virus*. *PLoS Pathog* 2008;4(2):e11. doi: 10.1371/journal.ppat.0040011.
 17. Mehle A, Doudna JA. *Adaptive strategies of the influenza virus polymerase for replication in humans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(50):21312-21316. doi: 10.1073/pnas.0911915106.
 18. Conenello GM, Zamarin D, Perrone LA, Tumpey T, Palese P. *A single mutation in the PB1-F2 of H5N1 (HK/97) and 1918 influenza A viruses contributes to increased virulence*. *PLoS Pathog* 2007;3(10):1414-1421. doi: 10.1371/journal.ppat.0030141.
 19. Hai R, Schmolke M, Varga ZT, et al. *PB1-F2 expression by the 2009 pandemic H1N1 influenza virus has minimal impact on virulence in animal models*. *J Virol* 2010;84(9):4442-4450. doi: 10.1128/JVI.02717-09.
 20. Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. *Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses*. *Nat Med* 2002;8(9):950-954. doi: 10.1038/nm757.
 21. Twu KY, Kuo RL, Marklund J, Krug RM. *The H5N1 influenza virus NS genes selected after 1998 enhance virus replication in mammalian cells*. *J Virol* 2007;81(15):8112-8121. doi: 10.1128/JVI.00006-07.
 22. Hale BG, Steel J, Medina RA, et al. *Inefficient control of host gene expression by the 2009 pandemic H1N1 influenza A virus NS1 protein*. *J Virol* 2010;84(14):6909-6922. doi: 10.1128/JVI.00081-10.
 23. Ives JA, Carr JA, Mendel DB, et al. *The H274Y mutation in the influenza A/H1N1 neuraminidase active site following oseltamivir phosphate treatment leave virus severely compromised both in vitro and in vivo*. *Antiviral Res* 2002;55(2):307-317.
 24. *Pandemias anteriores I Influenza pandémica (influenza)* | CDC. Fecha de consulta: 5 octubre, 2018. Accesible en: <https://espanol.cdc.gov/enes/flu/pandemic-resources/basics/past-pandemics.html>.
 25. Chen GW, Shih SR. *Genomic signatures of influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus*. *Emerg Infect Dis* 2009;15(12):1897-1903. doi: 10.3201/eid1512.090845.
 26. Perez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, et al.; INER Working Group on Influenza. *Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in Mexico*. *N Engl J Med* 2009;361(7):680-689. doi: 10.1056/NEJMoa0904252.
 27. Sarti E, Manuell-Lee G, Mosqueda JL, et al. *[Influenza A H1N1 (2009): considerations at the time of declaring the end of the contingency in Mexico]*. *Rev Invest Clin* 2010;62(4):289-298.
 28. *WHO|Pandemic (H1N1) 2009-update 68*. Access date: 2018 October 5. Available from: http://www.who.int/csr/don/2009_10_02/en/.
 29. Schrauwen EJ, de Graaf M, Herfst S, Rimmelzwaan GF, Osterhaus AD, Fouchier RA. *Determinants of virulence of influenza A virus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33(4):479-490. doi: 10.1007/s10096-013-1984-8.
 30. Liu Y, Childs RA, Matrosovich T, et al. *Altered receptor specificity and cell tropism of D222G hemagglutinin mutants isolated from fatal cases of pandemic A(H1N1) 2009 influenza virus*. *J Virol* 2010;84(22):12069-12074. doi: 10.1128/JVI.01639-10.
 31. Goka EA, Valley PJ, Mutton KJ, Klapper PE. *Mutations associated with severity of the pandemic influenza A(H1N1)pdm09 in humans: a systematic review and meta-analysis of epidemiological evidence*. *Arch Virol* 2014;159(12):3167-3183. doi: 10.1007/s00705-014-2179-z.
 32. Ruggiero T, De Rosa F, Cerutti F, et al. *A(H1N1)pdm09 hemagglutinin D222G and D222N variants are frequently harbored by patients requiring extracorporeal membrane oxygenation and advanced respiratory assistance for severe A(H1N1)pdm09 infection*. *Influenza Other Respir Viruses* 2013;7(6):1416-1426. doi: 10.1111/irv.12146.
 33. Wedde M, Wählisch S, Wolff T, Schweiger B. *Predominance of HA-222D/G polymorphism in*

- influenza A(H1N1)pdm09 viruses associated with fatal and severe outcomes recently circulating in Germany.* PLoS One 2013;8(2):e57059. doi: 10.1371/journal.pone.0057059.
34. Wu C, Cheng X, Wang X, et al. *Clinical and molecular characteristics of the 2009 pandemic influenza H1N1 infection with severe or fatal disease from 2009 to 2011 in Shenzhen, China.* J Med Virol 2013;85(3):405-412. doi: 10.1002/jmv.23295.
35. Ledesma J, Pozo F, Pérez Ruiz M, et al.; Spanish Influenza Surveillance System (SISS). *Substitutions in position 222 of haemagglutinin of pandemic influenza A (H1N1) 2009 viruses in Spain.* J Clin Virol 2011;51(1):75-78. doi: 10.1016/j.jcv.2011.01.020.
36. Ilyushina NA, Khalenkov AM, Seiler JP, et al. *Adaptation of pandemic H1N1 influenza viruses in mice.* J Virol 2010;84(17):8607-8616. doi: 10.1128/JVI.00159-10.
37. Chutinimitkul S, Herfst S, Steel J, et al. *Virulence-associated substitution D222G in the hemagglutinin of 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus affects receptor binding.* J Virol 2010;84(22):11802-11813. doi: 10.1128/JVI.01136-10.
38. Charu V, Chowell G, Palacio-Mejia LS, et al. *Mortality burden of the A/H1N1 pandemic in Mexico: a comparison of deaths and years of life lost to seasonal influenza.* Clin Infect Dis 2011;53(10):985-993. doi: 10.1093/cid/cir644.
39. de la Rosa-Zamboni D, Vázquez-Pérez JA, Avila-Ríos S, et al. *Molecular characterization of the predominant influenza A(H1N1)pdm09 virus in Mexico, December 2011-February 2012.* PloS One 2012;7(11): e50116. doi: 10.1371/journal.pone.0050116.
40. Arellano-Llamas R, Alfaro-Ruiz L, Arriaga Canon C, et al. *Molecular features of influenza A (H1N1)pdm09 prevalent in Mexico during winter seasons 2012-2014.* PloS One 2017;12(7):e0180419. doi: 10.1371/journal.pone.0180419.
41. Linderman SL, Chambers BS, Zost SJ, et al. *Potential antigenic explanation for atypical H1N1 infections among middle-aged adults during the 2013-2014 influenza season.* Proc Natl Acad Sci USA 2014;111(44):15798-15803. doi: 10.1073/pnas.1409171111.
42. WHO|*Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2017 southern hemisphere influenza season.* Access date: 2018 September 24. Available from: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2017_south/en/.
43. Allen JD, Ross TM. *H3N2 influenza viruses in humans: Viral mechanisms, evolution, and evaluation.* Hum Vaccin Immunother 2018;14(8):1840-1847. doi: 10.1080/21645515.2018.1462639.
44. Melidou A, Gioula G, Exindari M, et al. *Influenza A(H3N2) genetic variants in vaccinated patients in northern Greece.* J Clin Virol 2017;94:29-32. doi: 10.1016/j.jcv.2017.07.003.
45. Rondy M, El Omeiri N, Thompson MG, Levéque A, Moren A, Sullivan SG. *Effectiveness of influenza vaccines in preventing severe influenza illness among adults: A systematic review and meta-analysis of test-negative design case-control studies.* J Infect 2017;75(5):381-394. doi: 10.1016/j.jinf.2017.09.010.