



Microbiología de la Gripe de 1918: desde el bacilo de Pfeiffer a la reconstrucción del virus A H1N1 en cadáveres en permafrost

Javier Garaizar Candina^a

(a) *Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea*

Recibido el: 1 de diciembre de 2020; aceptado el 15 de diciembre de 2020

PALABRAS CLAVE

Gripe de 1918.
Bacilo de Pfeiffer.
Secuenciación.
Genética inversa.
Permafrost.

Resumen:

Tras 100 años de la gripe pandémica de 1918, también llamada gripe española, y frente a una coyuntura de una nueva pandemia vírica causada por el coronavirus SARS-CoV-2, se hace necesario y oportuno realizar un análisis de los principales hitos históricos de esta importante enfermedad. El estudio del virus causante de la pandemia de la gripe de 1918 ha derivado en una de las historias más apasionantes de la microbiología moderna. El objetivo de este trabajo es conocer en mayor profundidad el trabajo de investigación revolucionario que dio lugar al descubrimiento, la secuenciación completa del genoma y la reconstrucción genética del virus de la gripe de 1918, lo que quizás nos ayude a llegar a entender algo mejor la actual pandemia de COVID-19.

© 2021 Academia de Ciencias Médicas de Bilbao. Todos los derechos reservados.

GILTZA-HITZAK

1918. urteko gripea.
Pfeiffer baziloa.
Sekuentzazioa.
Alderantzizko genetika.
Permafrost.

1918ko gripearen mikrobiologia: Pfeiffer-en bazilotik A H1N1 birusa berreraiki arte permafrosteko gorpuetan.

Laburpena:

1918an gripearen pandemia 100 urte igaro ondoren, espainiar gripea ere deitua, eta SARS-CoV-2 coronabirusak eragindako pandemia biriko berri baten aurrean, beharrezkoa eta puntuala da honen mugarri historiko nagusien analisia egitea. 1918ko gripearen pandemia eragin zuen birusaren azterketak mikrobiologia modernoko istoriorik zerraragarrietako bat lortu du. Artikulu honen xedea aurkikuntza, genomaren sekuentziazio osoa eta 1918ko gripearen birusaren berreraikuntza genetikoak ekarri zuen ikerketa lan iraultzailea sakonago ezagutzea da, eta horrek lagun dezake apur bat hobeto ulertzen egungo COVID-19 pandemia.

© 2021 Academia de Ciencias Médicas de Bilbao. Eskubide guztiak gordeta.

KEYWORDS

1918 flu.
Pfeiffer's bacillus.
Sequencing.
Reverse genetics.
Permafrost.

1918 influenza microbiology: from Pfeiffer's bacillus to the reconstruction of virus A H1N1 in cadavers in permafrost.

Abstract:

After 100 years of the flu pandemic of 1918, also called the Spanish flu, and in the face of a new viral pandemic caused by the SARS-CoV-2 Coronavirus, it is necessary and timely to carry out an analysis of the main historical milestones of this major disease. The study of the virus that caused the 1918 flu pandemic has resulted in one of the most exciting stories in modern microbiology. The objective of this paper is to gain a deeper understanding of the revolutionary research work that led to the discovery, complete genome sequencing, and genetic reconstruction of the 1918 influenza virus, which may help us to understand the current COVID-19 pandemic.

© 2021 Academia de Ciencias Médicas de Bilbao. All rights reserved.

Presentación

Tras 100 años de la gripe pandémica de 1918, también llamada gripe española (Erkoreka 2017, Jiménez-Clavero 2010), y frente a una coyuntura de una nueva pandemia vírica en este caso causada por el Coronavirus SARS-CoV-2 (Du et al. 2020), se hace necesario y oportuno realizar un análisis de los principales hitos históricos del estudio de esta importante enfermedad. La pandemia de gripe de 1918 tuvo una mortalidad excepcional, con un resultado estimado de más de 40 millones de muertos en todo el mundo, mostrando una característica diferencial respecto a otras previas y posteriores como fue la gran afectación de los adultos jóvenes entre 15 y 34 años (Erkoreka 2017). El Instituto Geográfico y Estadístico español estimó en 182.865 el número de personas fallecidas por la pandemia gripe en España, aunque algunos autores han estimado un número muy superior, entre 260.000 y 270.000 personas (Echeverri 2018), estando muy bien detallada la influencia de la misma en el territorio del País Vasco (Erkoreka 2006).

Un factor fundamental en la difusión rápida de la enfermedad fue la gran movilidad internacional de tropas combatientes al final de la Primera Guerra Mundial. En cuanto a su capacidad de transmisión, estudios estadísticos han mostrado un índice de reproducción básico R_0 inferior a tres (Mills et al. 2004). Tras la guerra, la gripe se acabó extendiendo por todo el mundo en varias oleadas, llegando en algunos países hasta el año 1920, mostrando de forma característica una gran mortalidad en la mayoría de los países en la segunda de las oleadas, en otoño de 1918.

El estudio de uno de los patógenos más letales de la humanidad, como el virus causante de la pandemia de la gripe de 1918, ha derivado en una de las historias más apasionantes de la Microbiología moderna. El objetivo de este trabajo es conocer en mayor profundidad el trabajo de investigación revolucionario que dio lugar al descubrimiento, la secuenciación completa del genoma y la reconstrucción genética del virus de la gripe de 1918, lo que quizás nos ayude a llegar a entender algo mejor la actual pandemia de COVID-19 provocada por el Coronavirus SARS-CoV-2 (Wu et al. 2020). No se debe olvidar que los descendientes del virus de la gripe A H1N1 que causaron la histórica y catastrófica pandemia de 1918 han persistido hasta nuestros días, habiendo contribuido a la creación de nuevos virus mediante el intercambio de genes, causando pandemias, epidemias y epizootias desde entonces (Morens et al. 2009, Morens

et al. 2018). Es posible que el nuevo coronavirus llegue a comportarse de similar manera y que acabe integrándose en la lista ya de por sí amplia de patógenos respiratorios habituales en los humanos.

A pesar de los grandes avances en Virología y Biología molecular que condujeron a la reconstrucción del virus de la gripe de 1918 en el año 2005, todavía nos faltan muchos datos para entender lo que realmente ocurrió, por lo que este virus sigue siendo motivo de investigación y discusión científica. Se sigue intentando resolver cuestiones como: ¿cuándo, dónde y por qué se originó?; ¿por qué la diferencia de mortalidad en las tres olas pandémicas?; ¿ocurren las pandemias de gripe en periodos regulares?; ¿qué bases biológicas explican su elevada patogenicidad?; ¿cuáles fueron las causas de la mayor mortalidad en adultos jóvenes?; y finalmente, ¿estamos mejor preparados en la actualidad para hacer frente a una futura pandemia? (Pumarola et al. 2018, Morens et al. 2007). Todas ellas son preguntas todavía sin respuesta que deberíamos ser capaces de clarificar para asegurarnos un mayor nivel de preparación frente a futuras pandemias, gripales o no.

Microbiología de los virus gripales

La gripe, influenza o flu para los anglosajones, es una enfermedad infecciosa respiratoria de origen vírico responsable de epidemias y pandemias que afecta al ser humano y a los animales, principalmente a las aves, cerdos, caballos y perros, entre otros. El cuadro clínico se conoce desde la antigüedad, habiendo sido reconocido por Hipócrates en siglo IV a. C (Pappas et al. 2008). En el tratado Hipocrático de las epidemias ya se describe un proceso respiratorio que fue denominado Tos de Perinto. Los signos y síntomas principales de la gripe (fiebre, dolor muscular, dificultad respiratoria) han permanecido constantes a lo largo del tiempo, aunque la enfermedad se muestra clínicamente muy variable ya que puede presentarse como una dolencia respiratoria banal o llegar a producir una pandemia con alta mortalidad, como se ha podido constatar en múltiples ocasiones a lo largo de la historia.

Los virus gripales se agrupan en cuatro géneros pertenecientes a la familia *Orthomyxoviridae*: Influenzavirus A, Influenzavirus B, Influenzavirus C e Influenzavirus D (Krammer et al. 2018). La gripe humana está causada fundamentalmente por los virus de la gripe A y B. Son virus RNA monocatenarios de polaridad negativa y están seg-

mentados (los virus de la gripe A y B contienen 8 segmentos), presentan simetría helicoidal, estando provistos de una membrana (procedente de la última célula a la que infectaron) en la que se encuentran insertas las glicoproteínas víricas hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA). La HA y NA en el caso de los Influenzavirus A van a definir el subtipo. Se han descrito en la actualidad 18 subtipos de HA y 11 de NA (Kosik et al. 2019) en los diversos reservorios humano y animal, aunque a pesar de las múltiples combinaciones posibles solo se han detectado tres subtipos HA y dos subtipos NA (H1N1, H2N2 y H3N2) en virus verdaderamente adaptados al ser humano, un hecho que sugiere importantes limitaciones de adaptación al hospedador, aunque se han comunicado casos de virus aviares tipo H5N1, H7N7 o N9N2 que han afectado a un número reducido de personas. La HA es la responsable principal de la infecciosidad del virus y de su entrada en las células mediante fusión de la envoltura vírica con la membrana de la célula diana. La NA es importante en la replicación vírica, interviniendo en su liberación de la célula huésped y facilitando la difusión de célula a célula, lo que afecta a la contagiosidad del virus.

El virus de la gripe está sujeto a cambios genéticos inherentes a su condición de virus ARN carente de actividad correctora por parte de la ARN polimerasa y a su genoma segmentado, lo que permite la recombinación entre los distintos segmentos en el caso de coinfección o infección simultánea de dos virus distintos en una misma célula (Taubenberger 2006). La variabilidad genética es

mayor para los virus A que para los virus B. Los pequeños cambios genéticos debido a mutaciones puntuales por errores de copia de la polimerasa, fenómeno conocido como deriva antigénica, dan lugar a la aparición de cepas suficientemente diversas como para dar origen a las epidemias estacionales, que determinan la necesidad de una reformulación anual de la vacuna. Por otro lado, en el virus gripal A pueden existir reagrupaciones genéticas con intercambio de segmentos completos entre dos virus A distintos, incluso de diferentes orígenes (humanos, mamíferos, aves...), denominado reordenamiento genético o cambio antigénico mayor, lo cual origina un nuevo subtipo que nunca haya circulado entre la población humana y da lugar a un virus con potencial pandémico. De forma menos frecuente también es posible el salto directo o indirecto de un reservorio como el aviario al hombre, provocando infecciones en personal asociado al cuidado o manipulación de esos animales, como el ocurrido en el caso del virus A H5N1 o H7N7. Afortunadamente estas situaciones son poco frecuentes y han sido controladas (Neumann 2015). En los últimos 130 años han surgido siete grandes pandemias de gripe que han afectado a los humanos: en 1889, 1900, 1918, 1957, 1968, 1977 y 2009, todas provocadas por Influenzavirus A (Taubenberger et al. 2010). Los virus gripales pandémicos de 1957, 1968 y 2009 son todos reordenamientos derivados de los virus de la gripe humana y animal, teniendo como base el "virus fundador" de 1918 del que han derivado a lo largo de los años (Sun et al. 2020, Belshe 2005), Figura 1.

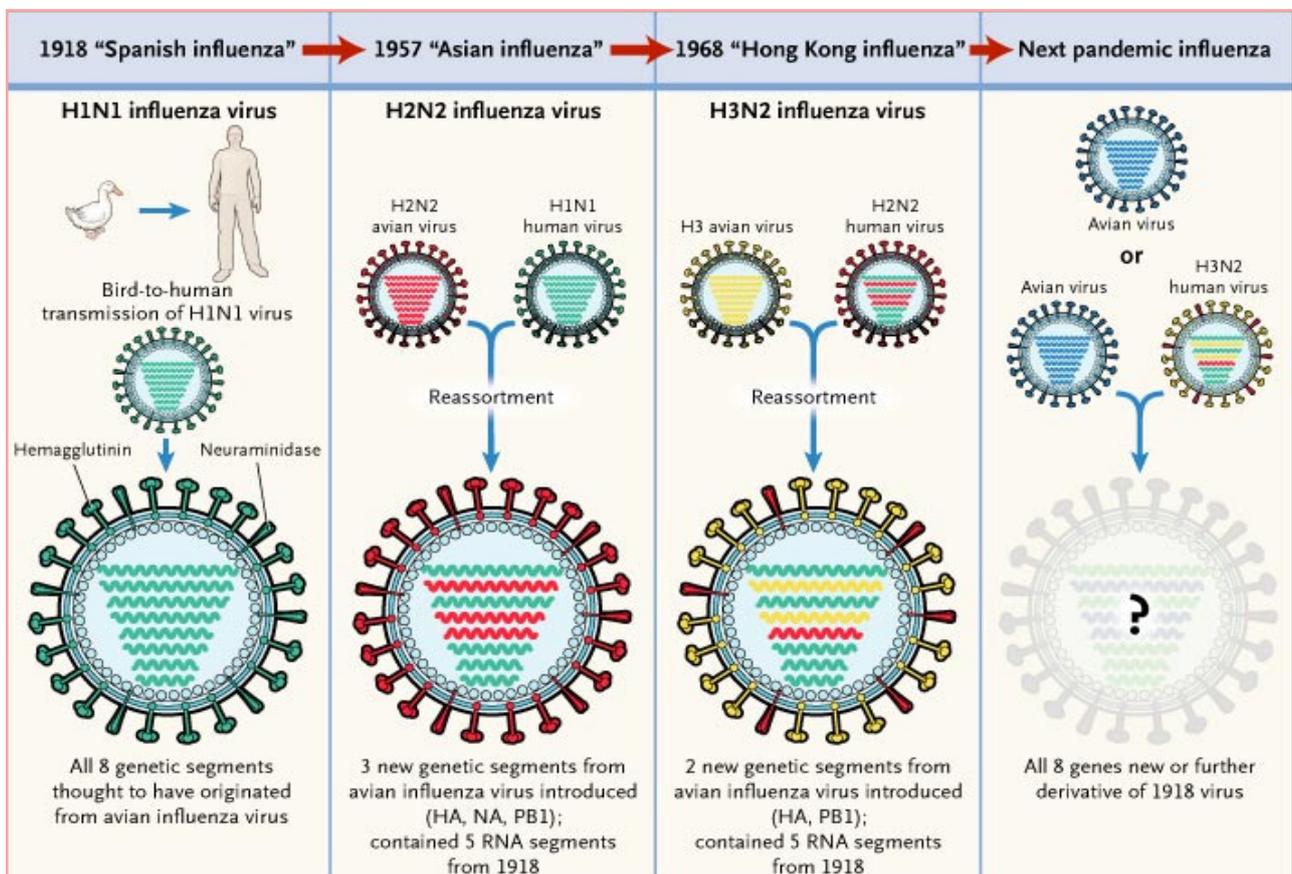


Fig 1. Reordenamientos de segmentos genéticos responsables de las pandemias de 1918, 1957 y 1968 (tomado de Belshe 2005).

Los virus de tipo B no se clasifican en subtipos y los circulantes actualmente pueden dividirse en dos linajes, B/Yamagata y B/Victoria. Los virus de tipo C se detectan con menos frecuencia y suelen causar infecciones leves, por lo que carecen de importancia desde el punto de vista de la Salud pública (Sederhahl et al. 2020). Los virus de tipo D afectan principalmente al ganado y parecen ser causa poco frecuente de infección en el ser humano (Asha et al. 2019).

Richard Pfeiffer, pionero en los estudios microbiológicos de la gripe

Desde tiempos inmemoriales el ser humano ha especulado sobre la causa de la gripe o influenza; las conjunciones de estrellas, el tiempo atmosférico o los gases venenosos de los pantanos, entre otras, han sido acusadas de ser el origen de esta enfermedad. El término "influenza" parece haber sido empleado en Italia en la Edad Media como una forma general de referirse a las enfermedades infecciosas. Así, en 1357 ya se alude a una gran epidemia como "grande influenza" y el término, aparece de forma intermitente desde entonces (Nájera 2010).

Al final del siglo XIX, durante la pandemia de gripe de 1889-1890, y coincidiendo con el desarrollo de la Bacteriología, se detectó la presencia habitual de un bacilo Gram negativo en las muestras respiratorias de pacientes con gripe. Este bacilo, identificado como *Haemophilus influenzae* (también conocido como bacilo de Pfeiffer), permaneció erróneamente por muchos años como el agente causal de la gripe. Richard Pfeiffer (Zduny, 1858 - Bad Landeck, 1945), fue un médico bacteriólogo que en el año 1888 entró a formar parte del equipo de auxiliares de Robert Koch en el Instituto de Higiene de Berlín (Filde 1956). Pfeiffer, aparte de realizar importantes descubrimientos en Bacteriología, como el concepto de endotoxina y anti-endotoxina (Rietschel et al. 2003), fue el primero en describir la relación del *Haemophilus influenzae* con la gripe epidémica en 1890, estableciendo la teoría del origen bacteriano de la infección. En su artículo de 1892 se refiere al bacilo como el "erreger" (patógeno en alemán) de la gripe. Sin embargo, ya desde entonces se suscitaban muchas dudas sobre su afirmación. Posteriormente, en la pandemia de 1918-19, varios investigadores no pudieron encontrar el bacilo en las muestras respiratorias ni en las autopsias de los pacientes.

Ahora se sabe que este bacilo es un microorganismo que coloniza junto a otros el aparato respiratorio, pudiendo llegar a ser un importante patógeno causante de neumonías bacterianas secundarias al proceso gripal y de ahí la asociación etiológica con la gripe (Taubenberger et al. 2008). Las bronconeumonías bacterianas secundarias a la infección gripal fueron una causa importante de mortalidad en la pandemia de 1918, de tal manera que, en ausencia de antibióticos, muchos centros de investigación desarrollaron sueros y vacunas frente a diferentes bacterias, aunque sin lograr demasiados efectos terapéuticos sobre el cuadro clínico (Porrás 2008). Por otro lado, la respuesta inmunológica exagerada en forma de tormenta de citoquinas, y otros factores aún no aclarados, parece que todos ellos sumados fueran la causa de la enorme mortalidad entre la población mundial.

El descubrimiento de los virus gripales

La relación entre los brotes casi simultáneos de gripe que ocurrieron en los humanos y en los cerdos en la pandemia de 1918 fue un tema de gran debate en aquel momento, de tal manera que algunos médicos y veterinarios sospechaban que fuesen incluso la misma enfermedad (Barberis et al. 2016). Sin embargo, las técnicas microscópicas y microbiológicas de entonces no permitieron determinar el origen de la infección, ya que los virus no habían sido aún descubiertos. Trece años más tarde, en 1931 Shope logró aislar el virus de la gripe porcina (Shope 1931) y dos años más tarde, en 1933, Smith, Andrewes y Laidlaw, trabajando en el Instituto Nacional para la Investigación Médica en Londres, hicieron lo propio con el humano, tras inocular un filtrado de lavado traqueal de un humano enfermo de gripe en hurones y secundariamente reproducir la neumonía en ratones, determinando así el origen vírico de esta enfermedad y el cumplimiento de los postulados de Koch (Smith et al. 1933). Más tarde, en 1940, Francis aisló un segundo tipo del virus de gripe de humano. La segunda cepa humana fue designada gripe B, para distinguirla del primer tipo encontrado, el cual fue denominado gripe A (Francis 1940). El virus de la influenza C se identificó por primera vez en humanos en 1947 (Taylor 1949) y originalmente se pensó que era exclusivamente un patógeno humano hasta que también se identificó en cerdos en China (Yuanji et al. 1983). Recientemente se ha descrito el virus de la gripe D, que afecta principalmente al ganado (Asha et al. 2019).

Origen de la pandemia de gripe de 1918

La pandemia de gripe de 1918, que tuvo un origen geográfico aún dudoso y sujeto a debate, rápidamente se extendió en tres oleadas por todo el planeta, incluso llegando al Ártico y a remotas islas del Océano Pacífico (Nájera 2010). Se calcula que logró infectar entre un tercio y la mitad de la población mundial, en ese momento de unos 1.800 millones de habitantes. La gravedad inesperada de la enfermedad produjo la muerte de entre el 2 y el 20 % de todos los infectados (frente a la tasa habitual de mortalidad de la gripe común, que está en torno al 0,1 %). Otra característica diferencial de esta pandemia fue que la mortalidad afectó sobre todo a jóvenes, mostrando en este grupo tasas de mortalidad veinte veces superiores a las de otros años (Nájera 2018), mientras que la gripe común tiene sus mayores tasas de mortalidad, por el contrario, en los estratos de población más joven (menores de dos años) y sobre todo entre los mayores de 70. Con la ayuda de análisis serológicos de supervivientes de 1918-19 se supo entonces que el letal virus de 1918, ya desaparecido, estaba emparentado con uno porcino, que apareció por primera vez en el medio oeste americano en 1930. Desde entonces lo conocemos como A/H1N1 (A/swine/Iowa/30) (Morens et al. 2018, Morens et al. 2007).

La hipótesis más reconocida por la comunidad científica sobre el origen del virus causante de la gripe de 1918 es la que afirma que la cepa se originó en Fort Riley, Kansas, en aves de corral y cerdos criados para alimentar a las tropas. El 4 de marzo de 1918, se detectó un brote en Fort Riley, con 500 soldados hospitalizados en una semana.

Sin embargo, al cabo de un mes, el número de pacientes disminuyó y parecía que la gripe había sido superada. Los soldados fueron enviados desde Fort Riley y el resto de campamentos militares al frente europeo para luchar en la Primera guerra mundial, donde parece que propagaron la enfermedad causando una enorme mortalidad en ambos bandos de los combatientes y de allí se extendió por todo el mundo (Barberis et al. 2016, Barry 2004).

Reconstrucción genética del virus de la gripe de 1918

Como se ha comentado previamente, los virus de la gripe no se aislaron hasta 13 años después de la pandemia, por lo que los científicos de los primeros años del siglo XX no fueron capaces de estudiar la base biológica de la aparición, patogenicidad o la desaparición del virus, dejándonos sin la posibilidad de prevenir o mitigar pandemias futuras. Debido a ello, la causa de la pandemia de 1918 y los determinantes de su gravedad siguió siendo uno de los problemas médicos más discutidos y misteriosos a lo largo del siglo XX (Morens et al. 2007, Krammer et al. 2018).

Sin embargo, el gran desarrollo de la Biología molecular y más en concreto de la tecnología de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (en inglés, PCR) y otras técnicas genéticas en la década de 1980, hizo posible recuperar ARN viral presente en tejidos preservados de personas que sucumbieron en 1918, a pesar de estar altamente degradado (Reid et al. 1999). A partir de 1995 y utilizando muestras pulmonares de dos soldados fallecidos en septiembre de 1918 en Fort Jackson, Carolina del Sur, en Camp Upton, Nueva York y el de una mujer Inut cuyo cadáver se conservó en el permafrost del pequeño poblado de Brevig Mission, en Alaska, los investigadores fueron capaces de ir secuenciando e identificando los genes principales del genoma del virus de la gripe (Reid et al. 2003), hasta completarlo en 2005 (Tumpey et al. 2005). Para lograr este extraordinario éxito fue necesaria la estrecha colaboración de muchos laboratorios, destacando el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), el Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas norteamericanas, el Laboratorio de Investigación de Avícola del Sureste del Gobierno norteamericano y la Escuela de Medicina Mount Sinai de Nueva York.

Una vez secuenciados completamente los 8 fragmentos del virus y con la intención de poder recrear el virus en el laboratorio, se sintetizaron las copias del ARN en ADN y se unieron a plásmidos, siendo éstos vectores genéticos de gran utilidad para el clonaje y la aplicación de las técnicas de Biología molecular. A continuación, se tomó la decisión de reconstruir el virus de la gripe pandémica más mortal del siglo XX, con el objetivo de determinar la virulencia y patogenicidad de este virus extinto. Esta decisión fue tomada con especial cuidado y, tras un largo debate ético sobre la utilidad y seguridad de los experimentos, la recreación genética del virus se llevó a cabo en los laboratorios de alta seguridad del CDC en Atlanta. El trabajo se realizó tomando estrictas medidas de bioseguridad, incluidas las prácticas, los protocolos y los laboratorios de contención de bioseguridad nivel 3 (BSL-3). Para mayor seguridad, se acordó que un solo investigador, Terrence M. Tumpey, realizara los experimentos en solitario (Nájera

2010, Tumpey et al. 2005). Tumpey, se ayudó de técnicas de genética inversa para recrear los virus, consistentes en la introducción de los plásmidos o vectores en las células eucariotas elegidas, con la intención de que estas fueran capaces de replicar el genoma viral y sintetizar las proteínas virales necesarias para la formación de los viriones. Se utilizaron cultivos celulares de células renales caninas junto con los plásmidos que contenían los segmentos virales, consiguiéndose finalmente el crecimiento del virus en cultivo y por tanto la reconstrucción del virus. De esta manera, se logró por primera vez en la historia la reconstrucción de un virus totalmente extinto, el virus de la gripe de 1918 (Nájera 2010, Tumpey et al. 2005, Taubenberger et al. 2012).

Una vez en el cultivo celular, se pudo estudiar la patogenicidad del virus y evaluar su virulencia mediante ensayos en el laboratorio. Sus efectos fueron estudiados en embriones de pollo, células pulmonares humanas y ratones, empleando para ello diversas versiones generadas por genética inversa con genes de otros virus gripales y así descubrir los elementos que lo hicieron tan mortífero. El virus reconstituido mataba a los embriones de pollo y mostró una sorprendente rápida capacidad para reproducirse, es decir, hacer copias de sí mismo y para propagar la infección en los pulmones de ratones infectados. Además, el virus de 1918 fue altamente letal para éstos, muriendo algunos de ellos al cabo de tres días o perdiendo hasta el 13 % del peso corporal a los dos días de la infección. El virus mostró una letalidad al menos 100 veces superior a la ocasionada por otros virus recombinados por genética inversa que fueron sometidos a la misma prueba. Los experimentos demostraron que el gen de HA del virus de 1918 fue decisivo en cuanto a su gravedad, ya que cuando el gen de HA del virus de 1918 fue intercambiado por el del virus de la gripe estacional humana A (H1N1), conocido como "A/Texas/36/91", y combinado con los siete genes restantes del virus de 1918, el virus recombinado resultante no causó la muerte de los ratones infectados ni les provocó una pérdida de peso considerable (Tumpey et al. 2005, Taubenberger et al. 2012, Taubenberger et al. 2006).

Tras el gran logro investigador de la recreación viral utilizando la genética inversa, los ensayos sobre patogenicidad y virulencia en animales siguieron adelante, de tal manera que, en 2007, se informó que los monos *Macaca fascicularis* infectados con la cepa de la gripe recreada exhibieron síntomas clásicos de la pandemia de 1918 y murieron a causa de tormentas de citoquinas, una reacción exagerada del sistema inmunitario (Kobas et al. 2007). Esto podría explicar por qué la gripe de 1918 tuvo un efecto sorprendente en las personas más jóvenes y saludables, ya que una persona con un sistema inmunitario más fuerte podría tener una reacción exagerada más poderosa.

A pesar del enorme paso adelante debido a la recreación del virus en el laboratorio todavía quedan importantes cuestiones por resolver como las citadas al principio de este capítulo. Sin embargo, desde entonces el estudio sistemático de la gripe y sus consecuencias epidemiológicas por parte de cientos de investigadores en multitud de centros de referencia ha conducido a grandes mejoras en la Salud pública. Desde 1952 la Organización Mundial

de la Salud monitoriza, rastrea y caracteriza los virus de gripe circulantes entre los seres humanos y los animales, habiendo establecido una amplia red de laboratorios situados estratégicamente a lo largo de todo el mundo denominada en inglés Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) (Ziegler et al. 2018). Esta amplia red de laboratorios, constituida por más de un centenar de laboratorios situada en ambos hemisferios, informa rápidamente a alguno de los cuatro laboratorios principales y a la propia OMS de la aparición de nuevas variantes del virus. Estos datos junto con los aportados por la red asistencial de médicos centinela de Atención primaria, permiten a la organización internacional estar permanente informada y así indicar a tiempo a las empresas farmacéuticas la composición de virus que debe tener la nueva vacuna anual.

Conclusiones

La pandemia de gripe de 1918 fue devastadora en vidas humanas y ha suscitado muchas preguntas en cuanto a su origen y sus causas desde entonces. Algunas de estas preguntas se pudieron resolver merced a los trabajos revolucionarios realizados por grandes microbiólogos y virologos que, utilizando técnicas fundamentales como la secuenciación del genoma, la PCR, el clonaje en plásmidos, la utilización de la genética inversa, el uso de los cultivos celulares y la experimentación animal, han determinado la virulencia de la cepa causante de la segunda gran oleada. Sin embargo, siguen sin ser resueltas otras cuestiones como la determinación del origen geográfico exacto de la pandemia. Por otro lado, al haberse podido reconstruir únicamente el virus causante de la segunda gran oleada de infección, queda sin determinar y comprobar la sospecha de la existencia de una mutación a lo largo de la primera oleada de la pandemia, que pudiera explicar la mayor mortalidad de la segunda oleada respecto a la primera.

Hoy en día estamos mejor preparados para combatir las epidemias de gripe debido a la capacidad de diagnóstico rápido, la vigilancia epidemiológica, la existencia de vacunas eficaces y de tratamientos específicos. Sin embargo, todavía existen numerosas cuestiones científicas por resolver que nos muestran nuestra debilidad como especie y las limitaciones de nuestra sociedad desde los puntos de vista de salud y social, puesto de manifiesto claramente en la pandemia que estamos sufriendo por el coronavirus SARS-CoV-2. Ojalá este nuevo coronavirus no se comporte como el virus gripal de 1918 en cuanto a su enorme mortalidad y que hayamos sido capaces de reaccionar a tiempo, ahora que conocemos la historia y el efecto que las enfermedades infecciosas pueden llegar a generar.

Bibliografía

1. Asha, K., Kumar, B. Emerging Influenza D virus threat: what we know so far! *Journal of Clinical Medicine* 2019; 8:192.
2. Barberis, I., Myles, P., Ault, S. K., Bragazzi, N. L., Martini, M. History and evolution of influenza control through vaccination: from the first monovalent vaccine to universal vaccines. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 2016; 57: E115-E120.
3. Barry J. M. The site of origin of the 1918 influenza pandemic and its public health implications. *Journal of Translational Medicine*, 2004; 2:3.
4. Belshe R. B. The origins of pandemic influenza – Lessons from the 1918 virus. *New England Journal of Medicine*, 2005; 353:2209-11.
5. Du Z., Wang L., Cauchemez S., Xu X., Wang X., Cowling B. J., Meyers L. Risk for transportation of Coronavirus disease from Wuhan to other cities in China. *Emerging Infectious Diseases*, 2020; 26:1049-52.
6. Echeverri B. *Revista de Demografía Histórica*, 2018; 36:17-42.
7. Erkoreka A. La Pandemia de gripe española en el País Vasco (1918-1919). Museo Vasco de Historia de la Medicina y de la Ciencia, Bilbao, 2006.
8. Erkoreka A. Y se le llamó gripe española. *Investigación y Ciencia*, junio 2017:52-3.
9. Fildes P. G. Richard Friedrich Johannes Pfeiffer, 1858-1945. *Biographical Memoirs of Fellows of Royal Society*, 1956; 2: 237-47
10. Francis T. A new type of virus from epidemic influenza. *Science*, 1940; 9:405-8
11. Guo Y. J., Jin F. G., Wang P., Wang M., Zhu J. M. Isolation of influenza C virus from pigs and experimental infection of pigs with influenza C virus. *Journal of General Virology*. 1983; 64:177-182.
12. Jiménez-Clavero M. A. Influenza, gripe, «gripe española», «gripe porcina» y otras controversias en la denominación de los virus: El lado «políticamente incorrecto» de la virología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2010; 28:661-3.
13. Katze M. G., Feldmann H., Kawaoka Y. Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus. *Nature*, 2007; 445:319-23.
14. Kosik I, Yewdell J. W. Influenza Hemagglutinin and Neuraminidase: yin-yang proteins coevolving to thwart Immunity. *Viruses*, 2019; 11:346.
15. Kobasa D., Jones S. M., Shinya K., Kash J. C., Copps J., Ebihara H., Hatta Y., Kim J. H., Halfmann P., Hatta M., Feldmann F., Alimonti J. B., Fernando L., Li Y., Krammer F., Smith G. J. D., Fouchier R. A. M., Peiris M., Kedzierska K., Doherty P. C., Palese P., Shaw M. L., Treanor J., Webster R. G., García-Sastre A.. Influenza. *Nature Reviews Diseases Primers*, 2018; 4:3.
16. Mills C. E., Robins J. M., Lipsitch M. Transmissibility of 1918 pandemic influenza. *Nature*, 2004; 432:904-66.
17. Morens D. M, Fauci A. S. The 1918 Influenza pandemic: insights for the 21st century. *Journal of Infectious Diseases*, 2007; 195:1018-28.
18. Morens D. M., Taubenberger J. K., Fauci A. S. The persistent legacy of the 1918 influenza virus. *New England Journal of Medicine*, 2009; 361:225-229.
19. Morens D. M. Tautenberger J. K. The mother of all pandemics is 100 years old (and going strong)! *American Journal of Public Health*, 2018; 108:1449-54.
20. Najera R. Historia de la gripe. En: Desde la memoria: Historia, medicina y ciencia en tiempos de epidemias. Fundación de Ciencias de la Salud, Madrid, 2010.

21. Nájera R. A los 100 años de la gripe del 18. *Virología*, 2018; 21: 36-42.
22. Neumann G. H5N1 influenza virulence, pathogenicity and transmissibility: what do we know? *Future virology*, 2015; 10: 971-80.
23. Pappas G., Kiriaze I. J., Falagas M. E. Insights into infectious disease in the era of Hippocrates. *International Journal of Infectious Diseases*, 2008; 12:347-50.
24. Porras M. I. Sueros y vacunas en la lucha contra la pandemia de gripe de 1918-1919 en España. *Asclepio - Revista de Historia de la Medicina y de la Ciencia* 2008; 60:261-288.
25. Pumarola T., Antón A. La Pandemia de gripe de 1918. Una incógnita 100 años después. *Revista de Enfermedades Emergentes*, 2018; 17:63-66.
26. Rietschel E. T., Cavaillon J. M. Richard Pfeiffer and Alexandre Besredka: creators of the concept of endotoxin and anti-endotoxin. *Microbes and Infection*, 2003; 5:1407-14.
27. Sederdahl, B. K., Williams, J. V. Epidemiology and clinical characteristics of Influenza C Virus. *Viruses*, 2020; 12:89.
28. Sun, H., Xiao, Y., Liu, J., Wang, D., Li, F., Wang, C., Li, C., Zhu, J., Song, J., Sun, H., Jiang, Z., Liu, L., Zhang, X., Wei, K., Hou, D., Pu, J., Sun, Y., Tong, Q., Bi, Y., Chang, K. C., Liu, J. Prevalent Eurasian avian-like H1N1 swine influenza virus with 2009 pandemic viral genes facilitating human infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020; 117: 17204-10.
29. Taubenberger J. K., Morens D. M. 1918 Influenza: the Mother of All Pandemics. *Emerging Infectious Diseases*, 2006; 12:15-22.
30. Taubenberger J. K. The origin and virulence of the 1918 "Spanish" influenza virus. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 2006; 50:86-112.
31. Taubenberger J. K., Morens D. M. The pathology of influenza virus infections. *Annual Review of Pathology* 2008; 3:499-522.
32. Taubenberger J. K., Morens D. M. Influenza: the once and future pandemic. *Public Health Reports*, 2010; 125 (Suppl 3):16-26.
33. Taubenberger J. K., Baltimore D., Doherty P.C., Markel H., Morens D. M., Webster R. G., Wilson I. A. Reconstruction of the 1918 influenza virus: unexpected rewards from the past. *mBio*, 2012; 3:e00201-12.
34. Reid A. H., Fanning T. G., Hultin J. V., Taubenberger J. K. Origin and evolution of the 1918 "Spanish" influenza virus hemagglutinin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1999; 96:1651-6.
35. Reid, A. H., Janczewski, T. A., Lourens, R. M., Elliot, A. J., Daniels, R. S., Berry, C. L., Oxford, J. S., Taubenberger, J. K. 1918 influenza pandemic caused by highly conserved viruses with two receptor-binding variants. *Emerging infectious diseases*, 2003; 9:1249-53.
36. Shope R. E. Swine influenza: I. Experimental transmission and pathology *Journal of Experimental Medicine* 1931; 54: 349-359.
37. Smith W., Andrewes C. H., Laidlaw P. P. A virus obtained from influenza patients. *The Lancet*, 1933; 222:66-68.
38. Tumpey T. M., Basler C. F., Aguilar P. V., Zeng H., Solórzano A., Swayne D. E., Cox N. J., Katz J. M., Taubenberger J. K., Palese P., García-Sastre A. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*, 2005; 310:77-80.
39. Taylor R. M. Studies on survival of influenza virus between epidemics and antigenic variants of the virus. *American Journal of Public Health*, 1949; 39:171-8.
40. Wu J. T, Leung K, Leung G. M. Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study. *Lancet*, 2020; 395:689-97.
41. Ziegler, T., Mamahit, A., Cox, N. J. 65 years of influenza surveillance by a World Health Organization-coordinated global network. *Influenza and other respiratory viruses*, 2018; 12:558-65.