

Zanamivir:

Nueva opción terapéutica de la gripe

E. Caballero, C. Prieto, M. Ruiz, J. R. Azanza

Servicio de Farmacología Clínica. Clínica Universitaria.
Facultad de Medicina. Universidad de Navarra

Introducción

La gripe es una infección viral que aparece prácticamente todos los inviernos de forma epidémica. En la población general causa una alta morbilidad, junto con una mortalidad nada despreciable en poblaciones de riesgo. La amplitud de la población afectada anualmente junto con la necesidad de absentismo laboral o escolar han situado a esta enfermedad entre las que generan un coste anual muy elevado.

El único medio eficaz, hasta la actualidad, para prevenir esta enfermedad es la administración de una vacuna inactivada que contiene los subtipos A y B de los virus que circularon en epidemias precedentes. Sin embargo, su efectividad es muy variable, ya que depende de la similitud entre el preparado y la cepa prevalente durante ese año.

Amantadina y rimantadina también han sido usados como profilaxis y tratamiento, pero su utilidad es limitada debido a su ineficacia frente al subtipo B gripal, sus efectos adversos y el rápido desarrollo de resistencias. Por otra parte, rimantadina no se comercializa en Europa.

El mejor conocimiento de la estructura y funcionamiento del virus de la gripe ha permitido el desarrollo de una nueva línea de fármacos que presentan un mecanismo de acción antiviral específico y que han demostrado su eficacia en el tratamiento y profilaxis de esta enfermedad. Este artículo describirá las características más relevantes del primer representante de esta nueva familia de inhibidores de la neuraminidasa; zanamivir.

Estructura química

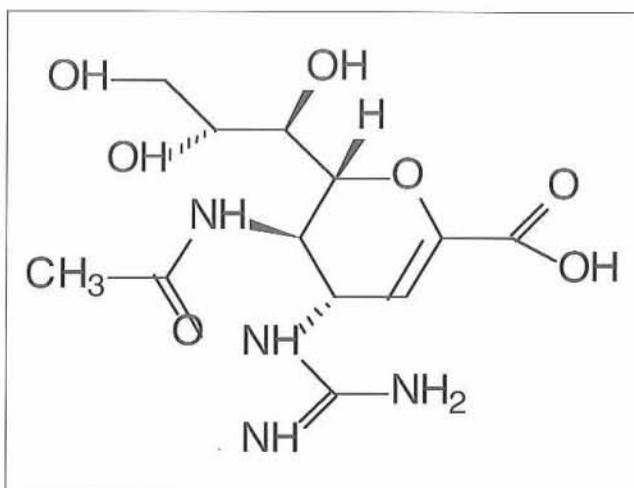
Zanamivir, (GG167), es un inhibidor competitivo de la neuraminidasa que se obtuvo a partir del ácido 2-deoxi-2,3-dihidro-N-acetil neuramínico (DANA). Su estructura química corresponde con: ácido 4-guanidina-2,4-dideoxi-2,3-dihidro-N-acetil neuramínico (Fig1) (1).

Mecanismo de acción

La neuraminidasa o sialidasa es una enzima presente en la superficie capsular de los dos subtipos del virus de la gripe, y que tiene una función fundamental para la replicación del virus. Se trata de una glicoproteína, con estructura de tetrámero, formada por cuatro subunidades idénticas, y cuyo sitio activo es una cavidad compuesta por una secuencia de aminoácidos que se conserva en todas las cepas del virus conocidas hasta ahora. En cada virión puede haber unas 100 moléculas de neuraminidasa (2,3).

La neuraminidasa no es completamente específica del virus de la gripe, ya que existen moléculas análogas en otros virus, en bacterias, y en células de mamíferos, por lo que a la hora de estudiar medicamentos capaces de inhibirla será imprescindible localizar

Figura 1



NUEVOS MEDICAMENTOS

moléculas con actividad selectiva, de otra forma pueden existir efectos adversos (2).

Esta enzima es responsable de romper el enlace cetósico a(2-6) ó a(2-3) que existe entre el ácido neuramínico y el residuo de azúcar adyacente que se encuentran en los glicoconjugados de la superficie celular. Esta actividad enzimática conlleva una serie de efectos: permite la liberación de viriones desde las células huésped infectadas, impide la formación de agregados víricos después de su liberación desde la célula, impide la inactivación del virus por el moco del tracto respiratorio, facilita la entrada del virus en las células epiteliales (4), potencia la patogenicidad del virus mediante la modificación de carbohidratos de la hemaglutinina, induce la apoptosis celular (5), y por último, induce la síntesis de interleucinas (6).

Zanamivir es un inhibidor selectivo de la neuraminidasa de los virus de la gripe tipo A y B, bloqueando las funciones de esta enzima (7), por inhibición competitiva. El grupo guanidino del fármaco establece enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas e interacciones de Van der Waals con los aminoácidos del sitio activo de la neuraminidasa gripal, impidiendo así que esta última pueda unirse a sus enlaces diana en la superficie celular (8).

A través de este mecanismo de acción, zanamivir es activo frente a los dos subtipos gripales: A y B, lo que supone una importante ventaja respecto a otros fármacos; amantadina y rimantadina, que actúan bloqueando el canal iónico de la proteína M2 vírica. La actividad de este fármaco es selectiva, por consiguiente no afecta a las neuraminidasas no gripales, como la neuraminidasa lisosomal humana. Se evitan de este modo efectos adversos (9).

Farmacocinética

La farmacocinética de zanamivir fue estudiada mediante la administración de dosis únicas y múltiples por vía intravenosa, inhalada e intranasal. En los tres casos la cinética fue lineal.

En un estudio en el que se administró zanamivir en dosis de 16 mg a través de tres vías distintas (10), se cuantificó una valor de C_{max} de 1275 mg/l, cuando el fármaco se administró por vía intravenosa. La administración por vía inhalada e intranasal se siguió de un C_{max} de 136 mg/l y 4,2 mg/l, respectivamente.

La semivida de eliminación más larga correspondió a la administración vía tópica (t_{1/2} intranasal: 3,4 horas), seguida por la vía inhalatoria (t_{1/2}: 2,9 h) y por el valor alcanzado tras la administración por vía

intranasal t_{1/2}: 1,7 horas. Estas diferencias pueden relacionarse con la lentitud en la absorción del fármaco, que puede llegar a interferir en el cálculo de la semivida de eliminación.

La biodisponibilidad de zanamivir, fue del 10% para la vía intranasal y 20% para la vía inhalada, mientras que la administración por vía oral cursa con una biodisponibilidad prácticamente nula.

La administración de una dosis de 10 mg por vía inhalatoria, depositó el 77,6% de la dosis en la orofaringe, y el 13,2% en los pulmones. El porcentaje de fármaco que alcanzó las vías pulmonares se repartió de manera uniforme (11).

No se observaron diferencias entre sexos al comparar las concentraciones séricas de zanamivir administrándolo vía intranasal en dosis de 3,6 a 16 mg de 2 a 6 veces al día, en voluntarios inoculados con virus A. En los voluntarios que recibieron dosis de 16 mg, las concentraciones séricas fueron también iguales independientemente del subtipo de infección y la presencia o no de enfermedad en el tracto respiratorio superior (12).

El aclaramiento plasmático del fármaco es rápido. El 90% del fármaco es excretado por la orina, sin modificar.

Desarrollo de resistencias

Al igual que ocurre con otros antimicrobianos existe la posibilidad de que el virus de la gripe desarrolle resistencias frente a ellos, las investigaciones realizadas hasta el momento han encontrado mutaciones en el gen de la hemaglutinina y en el de la neuraminidasa.

En un ensayo realizado en células MDCK (células Madin Darby de riñón de perro) infectadas con el virus de la gripe H1N9, después de añadir zanamivir se observó el crecimiento de tres cepas cuya sensibilidad al fármaco resultó ser de 100 a 1000 veces menor que la de la cepa inicial (13). Al estudiar el gen de la hemaglutinina se encontraron mutaciones en áreas asociadas al lugar de unión de la proteína con el receptor celular disminuyendo así la adhesión, lo que le permitía infectar la célula sin que fuese determinante la actividad de la neuraminidasa.

En otro estudio con el virus de la gripe A/Singapore/1/57 (H2N2) se obtuvieron cepas en las que la sensibilidad a zanamivir, comprobada en placas de inhibición, disminuía 1000 veces; en cambio, al inocular estas cepas a ratones no existía ninguna variación en la sensibilidad comparándola con la de sus progenitores. (14)

Estudios adicionales de secuenciación in vitro rea-

lizados en cepas resistentes de los virus de la gripe A/NWS-G70C (H1N9) y B/Hong Kong/8/73, han descrito mutaciones en el gen de la neuraminidasa que pueden producir resistencias (15,16). Concretamente, se detectó la sustitución en ambos virus del aminoácido glicina por glutámico cerca del centro activo de la neuraminidasa; estos aminoácidos participan en la interacción entre la neuraminidasa y el grupo guanidino del zanamivir. En el virus B, además, se hallaron dos mutaciones en la hemaglutinina en las que la asparragina era sustituida por serina en las posiciones 145 y 150.

Otros estudios con el virus de la gripe A/Turkey/Minnesota/883/80 (H4N2) en presencia de zanamivir, observaron la presencia de glutamato en lugar de los aminoácidos alanina, aspartato o glicina en la posición 119 de la neuraminidasa (17). Estas cepas en ratones tenían baja infectividad, pero eran capaces de provocar respuestas febriles en hurones (18).

Se han realizado otros ensayos (19), pero la frecuencia e importancia de las mutaciones de la neuraminidasa en el uso clínico del zanamivir, están aún por determinar. Es posible que altas concentraciones locales del fármaco puedan retrasar el desarrollo de resistencias a los inhibidores de la neuraminidasa.

Las primeras resistencias observadas en vivo fueron encontradas en un niño inmunocomprometido que recibió zanamivir durante dos semanas por una neumonía causada por un virus de la gripe B (20). Después de ocho días se observó una mutación en la hemaglutinina y a los doce días apareció otra en la neuraminidasa.

Eficacia terapéutica

ESTUDIOS IN VITRO:

La eficacia de zanamivir, 4-amino-Neu5Ac2en, DANA, amantadina, rimantadina y ribavirina fue comparada en estudios in vitro. Al medir la CE50 (concentración eficaz al 50%) en placas con células MDCK, el valor más reducido se obtuvo para zanamivir (21) y al evaluar la actividad mediante la inhibición con neuraminidasa purificada zanamivir también resultó el más potente. Posteriormente se ha observado que la sensibilidad del virus en ratones se relaciona con las concentraciones obtenidas por inhibición enzimática y no con los ensayos en células MDCK; lo que hace pensar que unas cepas de virus son menos dependientes que otras de la actividad de la neuraminidasa.

En cultivos monoclonales del virus de la gripe aviar A se ha comprobado que zanamivir inhibe los nueve subtipos de neuraminidasas de este virus impidiendo de forma significativa el crecimiento de las distintas cepas. (22,23).

No se ha observado actividad contra el virus herpes simple tipo 1 y 2, virus varicela, zóster, rinovirus tipos 2 y 14, ni contra el virus parainfluenza tipos 2 y 3 (21).

ESTUDIOS EN ANIMALES:

Al inocular zanamivir por vía intranasal a ratones infectados con el virus de la gripe A/Singapore/1/57 (H2N2) se comprobó que la inhibición que producía zanamivir era 100 veces mayor que la de amantadina y 1000 veces mayor que la de ribavirina (3). Al comparar los ratones infectados y tratados con 0,027 mg/kg de zanamivir con los ratones infectados y no tratados, la replicación viral disminuía en un 10% en el primer grupo.

Se llevó a cabo otro ensayo en ratones a los que se inoculó el virus de la gripe A/Singapore/1/57. Al administrar profilácticamente 0.01 mg/kg de zanamivir, se obtenía una reducción clara de la mortalidad y de la consolidación pulmonar (24).

En otro estudio realizado en ratones, administrando una dosis de 12,5 mg/kg de zanamivir tres horas después de la inoculación, se obtuvo una disminución significativa del título del virus (25), mientras que con dosis de 0,4 mg/kg no se observaba ningún efecto.

ESTUDIOS EN HUMANOS:

Los primeros ensayos en humanos se realizaron para estudiar la eficacia de zanamivir en la prevención y tratamiento de la gripe A/Texas/91 (H1N1). Se inoculó por vía intranasal el virus a adultos sanos, administrando zanamivir antes y después de la exposición al virus. Cuando se administraba el fármaco cuatro horas antes de la inoculación viral (26) disminuía el uso de paracetamol, la tos, los síntomas del tracto respiratorio alto y la cantidad de moco. Con la administración 26-32 horas después de la inoculación, se observaba una reducción de la carga viral, la fiebre se prevenía en un 84% y la tos, la cantidad de moco y el uso de paracetamol disminuían entre 40 y 60%. Si la dosis inicial se administraba 50 horas después de la inoculación descendía rápidamente la carga viral pero no se encontraban variaciones significativas en los síntomas. La eficacia de dos dosis diarias demostró ser igual a la de seis dosis al día. En estudios posteriores se observaba un descenso significativo de las manifestaciones otológicas cuando se administraba precozmente (27).

NUEVOS MEDICAMENTOS

En un estudio doble ciego, randomizado, en 417 pacientes afectados de gripe de menos de 48 horas de evolución, realizado en 38 centros de América del Norte y 32 de Europa, durante la temporada de gripe de 1994-95 se estudió la eficacia y tolerancia de las siguientes pautas: 6,4 mg de zanamivir intranasal más 10 mg inhalados, 10 mg de zanamivir intranasal más placebo inhalado, placebo nasal e inhalado. Cada pauta se administraba dos veces al día durante cinco días. Los síntomas principales de los pacientes con gripe se aliviaron un día antes, aunque el resultado sólo fue estadísticamente significativo en el grupo que recibió zanamivir inhalado e intranasal. En los pacientes febriles que eran tratados antes de 30 horas del inicio de los síntomas, el alivio se conseguía tres días antes en relación con el grupo placebo (28).

En otro estudio de diseño similar, realizado en 116 japoneses que padecían gripe de menos de 36 horas de evolución, se comprobó que los síntomas (fiebre, rinorrea, tos y malestar general) disminuían en los dos grupos que recibieron zanamivir (18).

Más recientemente un estudio multicéntrico valoró la eficacia de zanamivir intranasal e inhalatorio 2 ó 4 veces al día. Los pacientes con gripe aguda experimentaron una disminución de los trastornos del sueño, de la estancia en cama y del tiempo de incorporación a la actividad laboral (29).

Reacciones adversas

En los estudios realizados, zanamivir ha sido bien tolerado, y sus efectos adversos han sido similares a los presentados entre los sujetos tratados con placebo.

En un estudio randomizado, doble ciego, en el que participaron 450 pacientes con sintomatología gripal, se comparó la eficacia y tolerancia de zanamivir inhalado dos veces al día durante cinco días, con un grupo control que recibió placebo. La incidencia de efectos adversos fue del 37% entre los pacientes tratados con el fármaco activo y del 48% entre los que recibieron placebo. De estos efectos adversos, los más comunes fueron bronquitis, tos, sinusitis, infecciones del tracto respiratorio bajo, diarrea, náuseas y vómitos.

Se estudió la tolerancia en pacientes de alto riesgo (edad > 65 años; alteraciones cardíacas o metabólicas o respiratorias tipo asma; hipertensión; pacientes inmunocomprometidos). En este subgrupo el tratamiento con zanamivir produjo algún efecto adverso en el 38% de los pacientes, mientras que la incidencia entre los tratados con placebo fue del 56%. En este

caso, los efectos adversos más comunes fueron asma y bronquitis. Las constantes vitales y los datos de laboratorio fueron similares en los dos grupos: zanamivir y placebo (30).

En otro estudio realizado sobre 417 participantes con síntomas gripales, se evaluó la eficacia y tolerancia en tres grupos de pacientes. Uno de ellos fue tratado con 6,4 mg de zanamivir en forma de spray intranasal y 10 mg por inhalación. Otro grupo recibió 10 mg de zanamivir vía inhalada y un spray con placebo y el tercer grupo recibió placebo por las dos vías. Los tres tratamientos se administraron dos veces al día durante cinco días. Los efectos adversos posiblemente relacionados con el fármaco aparecieron sobre todo en el tracto respiratorio alto y en el tracto gastrointestinal, y se observaron en el 18% de los pacientes que recibieron placebo, en el 23% a los que se administró zanamivir inhalado y placebo, y en 25% de los que recibieron el fármaco inhalado e intranasal. La frecuencia de irritación nasal y/o ocular fue similar en ambos grupos. En ningún caso se apreciaron alteraciones en la analítica sanguínea, en la de orina o en la respuesta serológica (31).

De la experiencia acumulada puede señalarse que zanamivir no produce efectos adversos importantes. No altera la espirometría, incluso cuando se administra a pacientes con asma. La incidencia y severidad de los efectos adversos menores: dolor de cabeza, molestias en el tracto respiratorio superior y en el tracto gastrointestinal, no se diferencian significativamente de los que aparecen al administrar placebo. Además, resulta muy difícil descartar que no sean simplemente el cortejo de síntomas acompañantes de la infección gripal (31,32).

Formas de presentación

El nombre comercial de zanamivir es Relenza (Glaxo-Wellcome). Al cierre de la edición de este número de la revista, se desconocía en precio asignado, así como su inclusión dentro del grupo de medicamentos financiados por el INSALUD.

Conclusiones

Proximamente estará a disposición de los médicos, zanamivir, inhibidor de la neuroaminidasa del virus de la gripe A y B. La experiencia en la investigación clínica ha sido favorable, mostrando este fármaco buena actividad antigripal reduciendo la intensidad de los síntomas gripales y permitiendo una recuperación

rápida del paciente, cuando se administra de forma precoz respecto al inicio de los síntomas. Desconocemos en este momento el precio de este medicamento que puede resultar un factor decisivo, cuando se estudia el perfil global de la acción preventiva. En la actualidad la vacunación resulta eficaz y los pacientes no vacunados raramente presentan complicaciones graves. El tratamiento de estos, sintomático, suele

propiciar la recuperación del paciente, en un período de tiempo habitualmente, corto. La disponibilidad de este nuevo fármaco permitirá sin duda, aliviar de forma más rápida esta enfermedad, e incluso prevenirla, en sujetos no vacunados, su indicación universal puede depender, si en la práctica clínica se confirma su perfil, exclusivamente, de la relación coste invertido/coste evitado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Calfce DP, Hayden FG. New approaches to influenza chemotherapy. Neuraminidase inhibitors. *Drugs* 1998 Oct; 56(4): 537-53.

2. Colman PM, Varghese JN, Laver WG. Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase. *Nature* 1983; 303 (5912): 41-4.

3. von Itzstein M, Wu WY, Kok GB, et al. Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication. *Nature* 1993; 363 (6428): 418-23.

4. Colman PM. Influenza virus neuraminidase: structure, antibodies, and inhibitors. *Protein Sci* 1994; 3 (10): 1687-96.

5. Schultz-Cherry S, Hinshaw VS. Influenza virus neuraminidase activates latent transforming growth factor beta. *J Virol* 1996; 70 (12): 8624-9.

6. Houde M, Arora DJ. Stimulation of tumor necrosis factor secretion by purified influenza virus neuraminidase. *Cell Immunol* 1990; 129 (1): 104-11.

7. Woods JM, Bethel RC, Coates JA, et al. 4-guanidino-2,4-dideoxy-2,3-dihydro-N-acetylneuraminic acid is a highly effective inhibitor both of the sialidase (neuraminidase) and of growth of a wide range of influenza A and B viruses in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1993 Jul; 37: 1473-9.

8. Varghese JN, Epa VC, Colman PM. Three-dimensional structure of the complex of 4-guanidino-Neu5Ac2en and influenza virus neuraminidase. *Protein Sci* 1995; 4 (6): 1081-1087.

9. Read-RC. Treating influenza with zanamivir [comment]. *Lancet*. 1998 Dec 12; 352(9144): 1872-3.

10. Efthymiopoulos C, Barrington P, Patel JA. Pharmacokinetics of the neuraminidase inhibitor 4-guanidino Neu5Ac2en (GG167) following intravenous, intranasal and inhaled administration in man [abstract no H70]. 34th Interscience Conference on Microbiology; 1994 Oct 4-7; Orlando (FL), 265.

11. Hart GJ, Bethel RC. 2,3-dideoxy-2,4-dideoxy-4-guanidino-N-acetyl-D-neuraminic acid (4-guanidino-Neu5-Ac2en) is a slow-binding inhibitor of sialidase from both influenza A virus and influenza B virus. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 36(4): 695-703.

12. Hussey E, Hayden F, Grosse C, et al. Serum and urine GG167 concentrations in healthy subjects inoculated experimentally with influenza A virus [abstract]. 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 1995 Sep 17-20; San Francisco, 25.

13. Mckimm-Breschkin JL, Blick TJ, Sahasrabudhe A, et al. Generation and characterization of variants of NWS/G70C influenza virus after in vitro

passage in 4-amino-Neu5Ac2en and 4-guanidino-Neu5Ac2en. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(1): 40-6.

14. Penn CR, Barnett J, Bethel R, et al. Selection of influenza virus with reduced sensitivity in vitro neuraminidase inhibitor GG167 (4-guanidino-Neu5Ac2en): changes in haemagglutinin may compensate for loss of neuraminidase activity. In: Brown LE, Hampson AW, Webster RG, editors. Options for the control of influenza III. Amsterdam, Elsevier Science B.V.; 1996: 735-40.

15. Blick TJ, Tiong T, Sahasrabudhe A, et al. Generation and characterization of an influenza virus neuraminidase variant with decreased sensitivity to the neuraminidase-specific inhibitor 4-guanidino-Neu5Ac2en. *Virology* 1995; 214 (2): 475-84.

16. Staschke KA, Colacino JM, Baxter AJ, et al. Molecular basis for the resistance of influenza viruses to 4-guanidino-Neu5Ac2en. *Virology* 1995; 214(2): 642-6.

17. Gubareva I.V, Bethel RC, Hart GJ, et al. Characterization of mutants of influenza A virus selected with the neuraminidase inhibitor 4-guanidino-Neu5Ac2en. *J Virol* 1996; 70(3): 1818-27.

18. Matsumoto K, Nerome K, Numasaki Y. Inhaled and intranasal GG167 in the treatment of influenza A

NUEVOS MEDICAMENTOS

and B: preliminary results. In: Brown JF, Hampson AW, Webster RG, editors. Options for the control of influenza III. Amsterdam: Elsevier Science; 1996: 713-7.

19. Gubareva LV, Robinson MJ, Bethel RC, et al. Catalytic and framework mutations in the neuraminidase active site of influenza viruses that are resistant to 4-guanidino-Neu5Ac2en. *J Virol* 1997; 71(5): 1818-27.

20. Gubareva LV, Matrosovich MN, Brenner MK, et al. Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. *J Infect Dis*. In press.

21. Woods JM, Bethel RC, Coates JA, et al. 4-guanidino-2,4-dideoxy-2,3-dehydro-N-acetylneuraminic acid is a highly effective inhibitor both of the sialidase (neuraminidase) and of growth of a wide range of influenza A and B viruses in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(7): 1473-9.

22. Thomas GP, Forsyth M, Penn CR, et al. Inhibition of the growth of influenza viruses in vitro by 4-guanidino-2,4-dideoxy-N-acetylneuraminic acid. *Antiviral Res* 1994; 24(4): 351-6.

23. Gubareva LV, Penn CR, Webster RG. Inhibition of replication of avian influenza viruses by the neuraminidase inhibitor 4-guanidino-2,4-dehydro-N-acetylneuraminic acid. *Virology* 1995; 212(2): 323-30.

24. Ryan DM, Ticehurst J, Dempsey MH, et al. Inhibition of influenza virus replication in mice by GG167 (4-guanidino-2,4-dideoxy-2,3-dehydro-N-acetylneuraminic acid) is consistent with extracellular activity of viral neuraminidase (sialidase). *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 38(10): 2270-5.

25. Hayden FG, Rollins BS, Madren LK. Anti-influenza virus activity of the neuraminidase inhibitor 4-guanidino-Neu5Ac2en in cellculture and in human respiratory epithelium. *Antiviral Res* 1994; 25(2): 1233-31.

26. Hayden FG, Treanor JJ, Betts RF, et al. Safety and efficacy of the neuraminidase inhibitor GG167 in experimental human influenza. *JAMA* 1996; 275(4): 295-9.

27. Walker LB, Hussey EK, Treanor JJ, et al. Effects of the neuraminidase inhibitor zanamivir on otologic manifestation of experimental human influenza. *J Infect Dis* 1997; 176: 1417-22.

28. Hayden FG, Osterhaus ADME, Treanor JJ, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza virus infections. *N Engl J Med* 1997 Sep 25; 337: 874-80.

29. Aoki FY, Fleming DM, Lacey L, et al. Impact of treatment of influenza with zanamivir on patient health status, sleep quality, productivity and healthcare use [abstract no. N-15]. 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 1997 Sep 28-Oct 1; Toronto (ON), 384.

30. Randomised trial of efficacy and safety of inhaled zanamivir in treatment of influenza A and B virus infection. The MIST (Management of Influenza in the Southern Hemisphere Trialists) Study Group. *Lancet* 1998 Dec 12; 352(9144): 1877-81.

31. Hayden FG, Osterhaus ADME, Treanor JJ, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza virus infections. *N Engl J Med* 1997 Sep 25; 337: 874-80.

32. Hayden FG, Treanor JJ, Betts RF, et al. Safety and efficacy of the neuraminidase inhibitor GG167 in experimental human influenza. *JAMA* 1996 Jan 24-31; 275: 295-9.