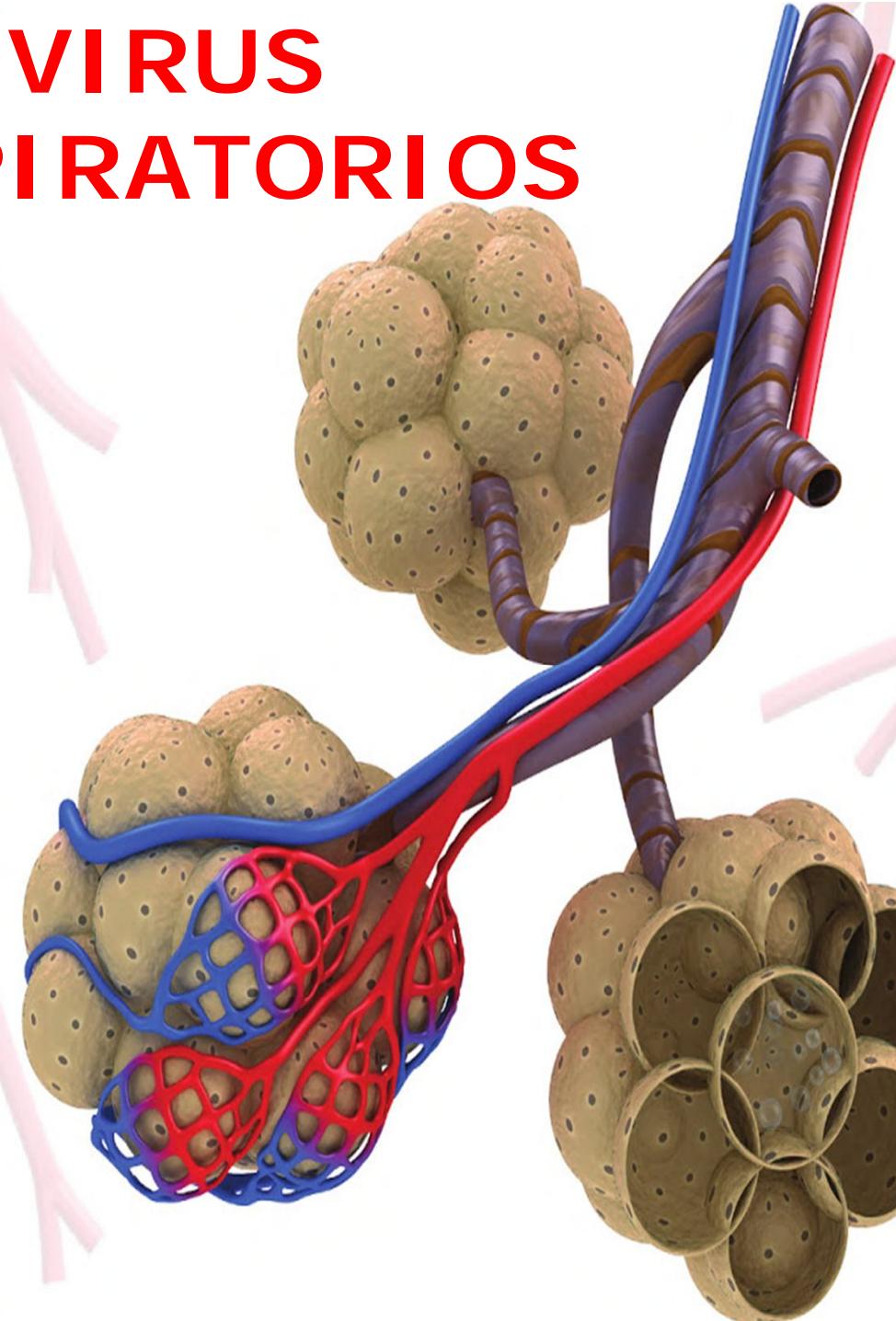


VIRUS RESPIRATORIOS



Jorge Quarle
I Cátedr
Dto. Microbiologí
Facultad de Ciencias Médica
Universidad de Buenos Aire

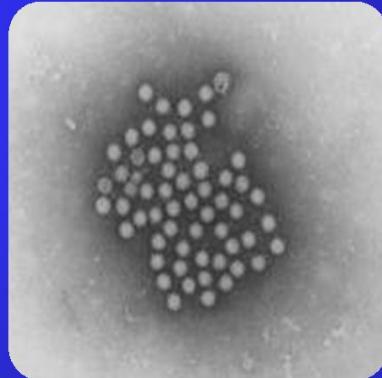
Objetivos

- 1. Reconocer los principales virus respiratorios**
 - a) Aspectos virológicos esenciales
 - b) Bases de su patogénesis
- 2. Contextualizar la epidemiología**
- 3. Conocer las herramientas para el diagnóstico**
- 4. Definir las medidas de profilaxis**

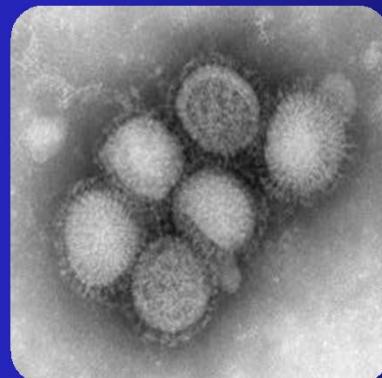
Responsables (algunos)



Sincicial
respiratorio



Rinovirus



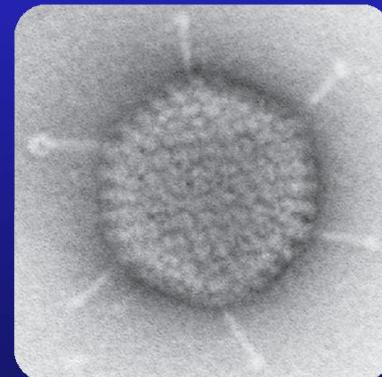
Parainfluenza



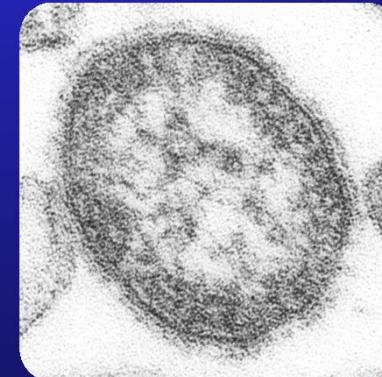
Influenza



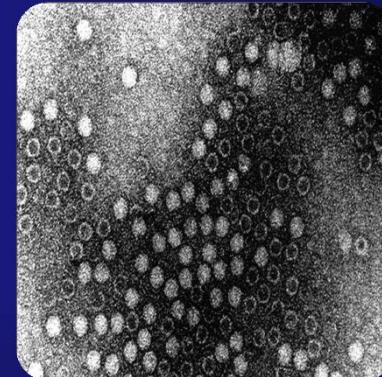
Metapneumovirus
humano



Adenovirus



Sarampión



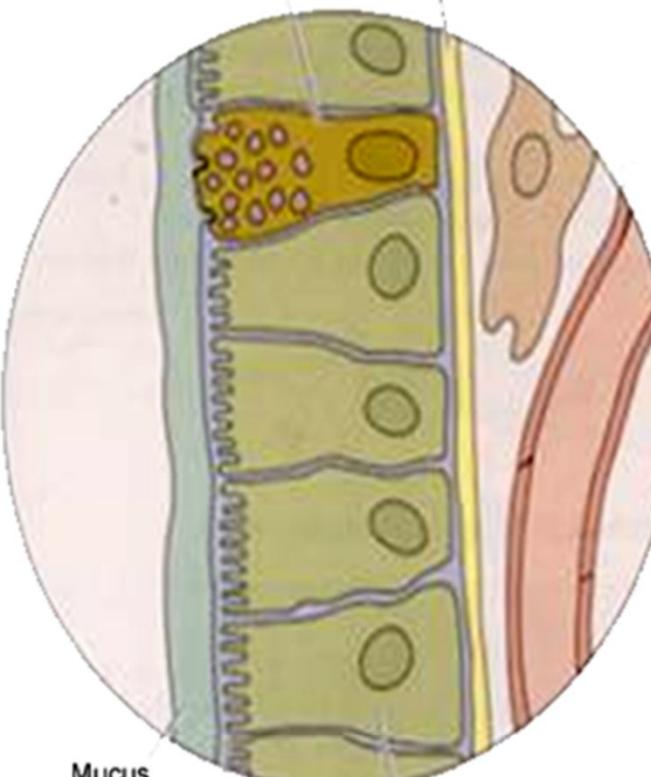
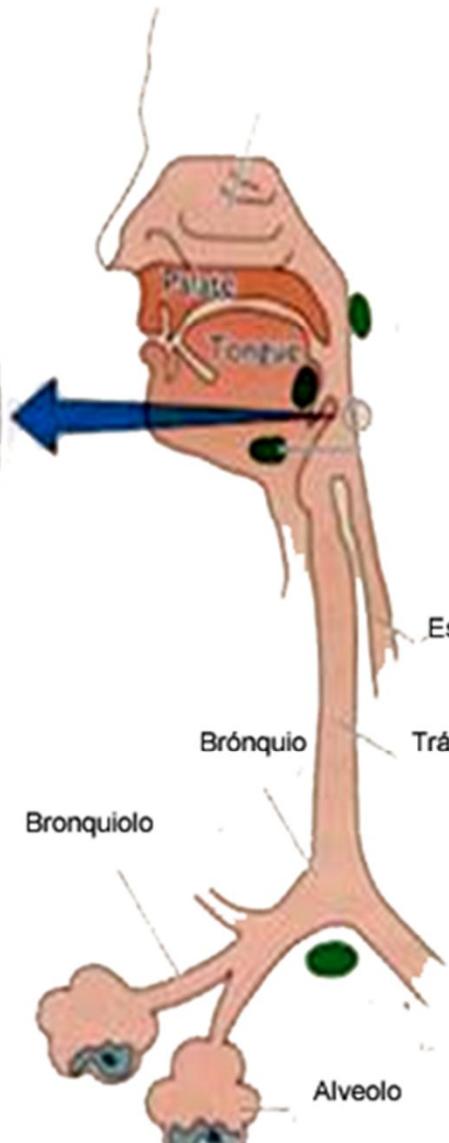
Parvovirus B19

**La vía de ingreso los
define como
virus respiratorios**



**Son responsables de infecciones LOCALIZADAS y
DISEMINADAS**

Infecciones localizadas

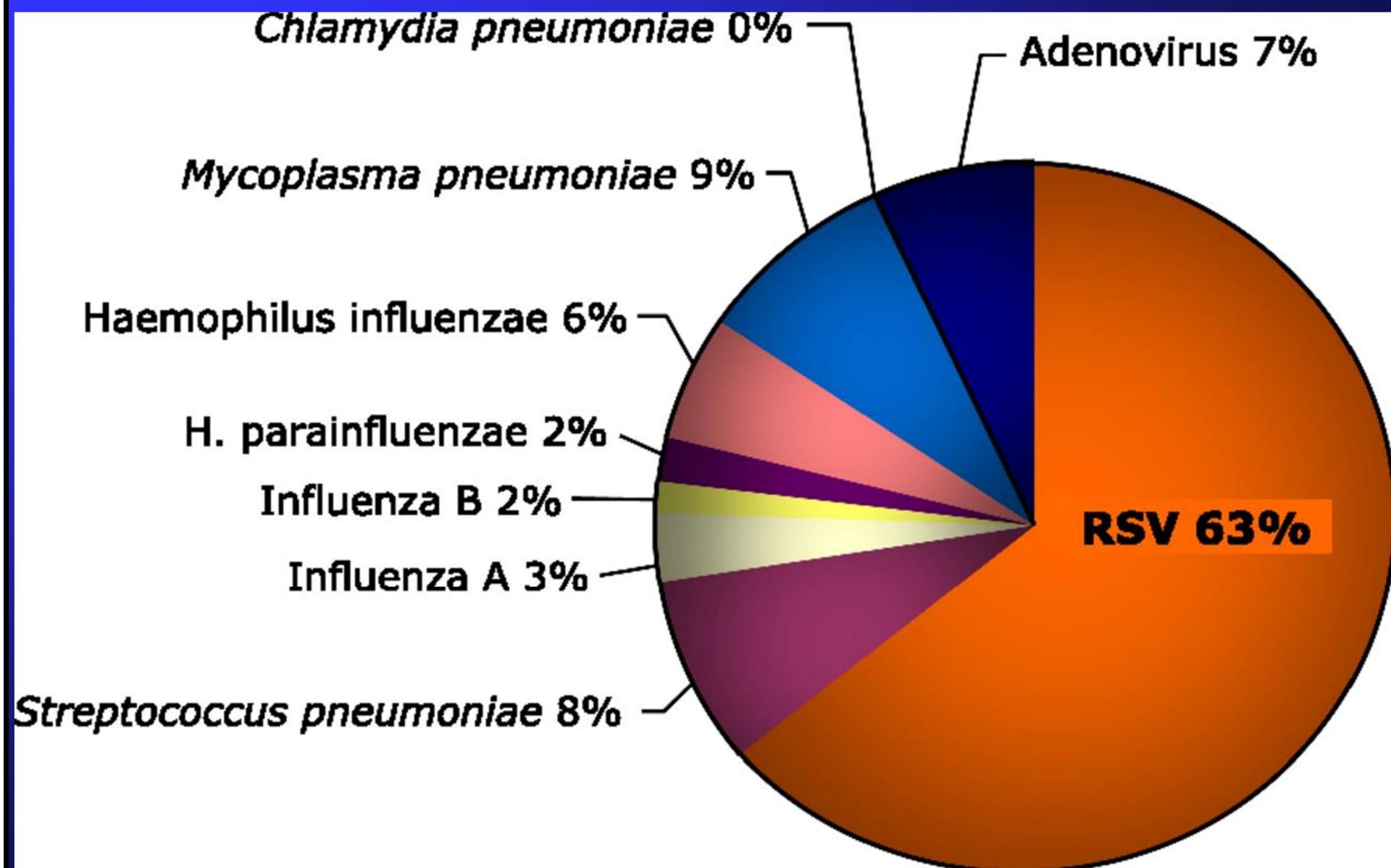
Célula caliciforme	Sitio de Replicación	Manifestación clínica	Virus
		Rinitis (resfío comú) Faringitis Laringitis	Rinovirus humano Coronavirus Virus parainfluenza Virus sincicial respiratorio Metapneumovirus humano Virus influenza Adenovirus
		Traqueitis	Virus sincicial respiratorio Rinovirus humano Virus influenza Adenovirus
		Bronquitis Bronquiolitis	
		Bronconeumonía	Virus parainfluenza Metapneumovirus humano

Relevancia general

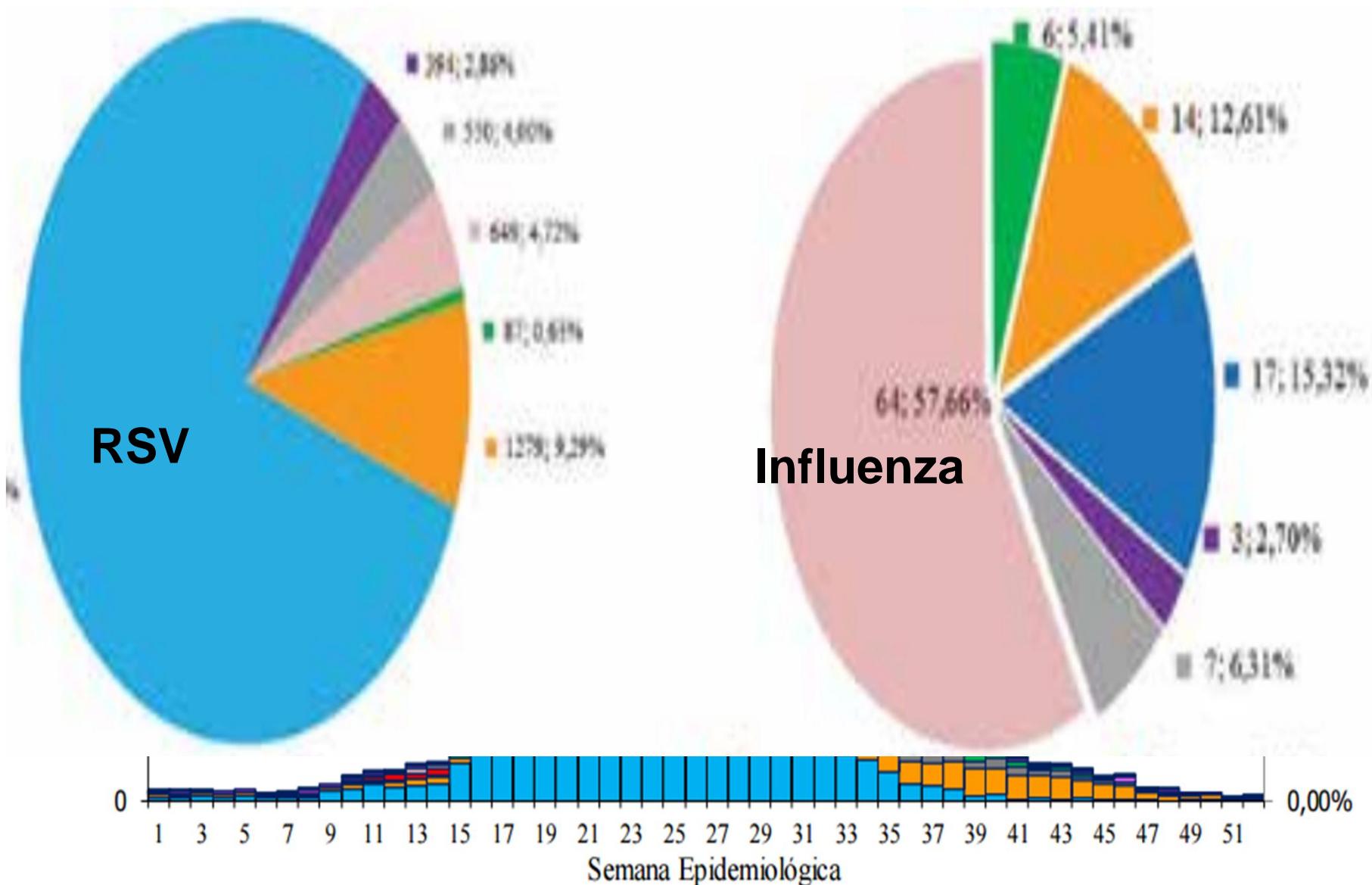
Causa más frecuente de enfermedad infecciosa

- Niños: 3-7 episodios /año
- Adultos: 5 episodios/año (en general IRA alta)
- En general son benignas, pero pueden complicar una enfermedad subyacente fundamentalmente cardiovascular y pulmonar.
- **En Argentina, la principal causa de consulta e internación en todas las edades.**

Etiología de las infecciones respiratorias agudas en niños



Distribución de virus respiratorios en menores de dos años y mayores de 65 años - Argentina 2015.



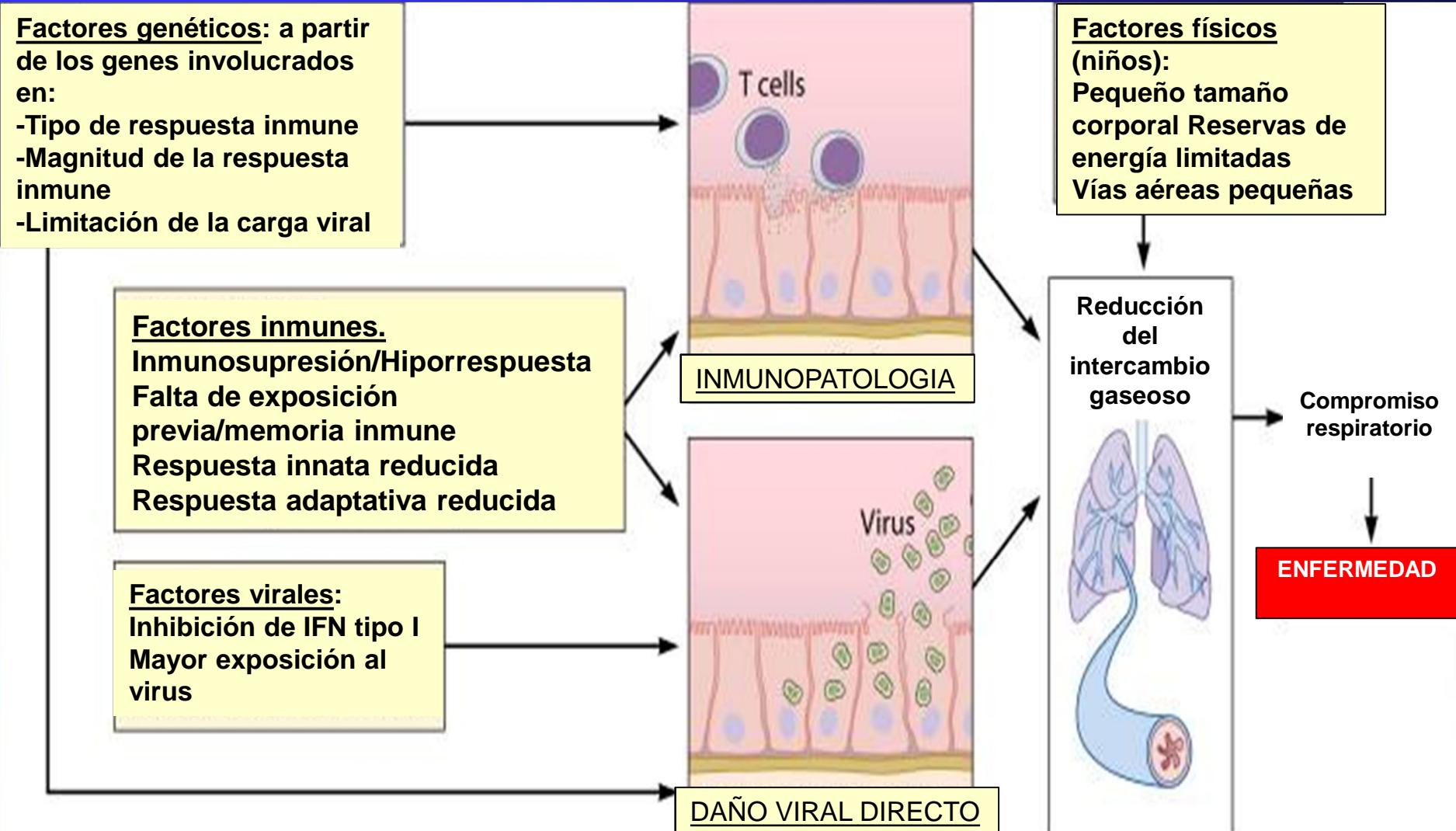
Virus	Receptor	Síntomas comunes	Complicaciones
Rinovirus	ICAM-1 o LDL	Rinorrea, rinitis, estornudos, dolor de garganta, tos	IRAA; bronquitis
Coronavirus comunes	Cepa específico	Fiebre, rinorrea, rinitis, estornudos, dolor de garganta, tos	IRAA
Adenovirus	Pentón específico	Fiebre, rinorrea, rinitis, estornudos, dolor de garganta, tos, conjuntivitis, diarrea	IRAA, croup, IRAB
Influenza estacional	Acido siálico	Fiebre, rinorrea con congestión, rinitis, estornudos, dolor de garganta, tos, cefalea, mialgia	IRAA, bronquitis, croup
VRS	Nucleolina	Fiebre, rinorrea, rinitis, estornudos, dolor de garganta, tos, sibilancias, dificultad respiratoria	IRAA, bronquitis, bronquiolitis, croup
Enterovirus D68	Acido siálico	Fiebre, rinorrea, rinitis, estornudos, dolor de garganta, tos, disnea, mialgia	IRAA, bronquitis, bronquiolitis, neumonía
Influenza pandémico	Acido siálico	Fiebre, rinorrea, rinitis, estornudos, dolor de garganta, tos, disnea, mialgia	Bronquitis, croup, neumonía, distress respiratorio agudo, falla respiratoria
SARS-CoV	ACE2	Fiebre, resfrio, tos, disnea, mialgia	Neumonía, distress respiratorio, falla, fibrosis
MERS-CoV	CD26	Fiebre, resfrio, rinitis, dolor de garganta, tos no productiva, esputo, disnea, cefalea, vómitos, diarrea, mialgia	Neumonía, distress respiratorio, falla, shock séptico, falla multiorgánica

Virus con diferentes estructuras y genoma, así como receptores celulares y modos de replicación causan síndromes clínicos similares

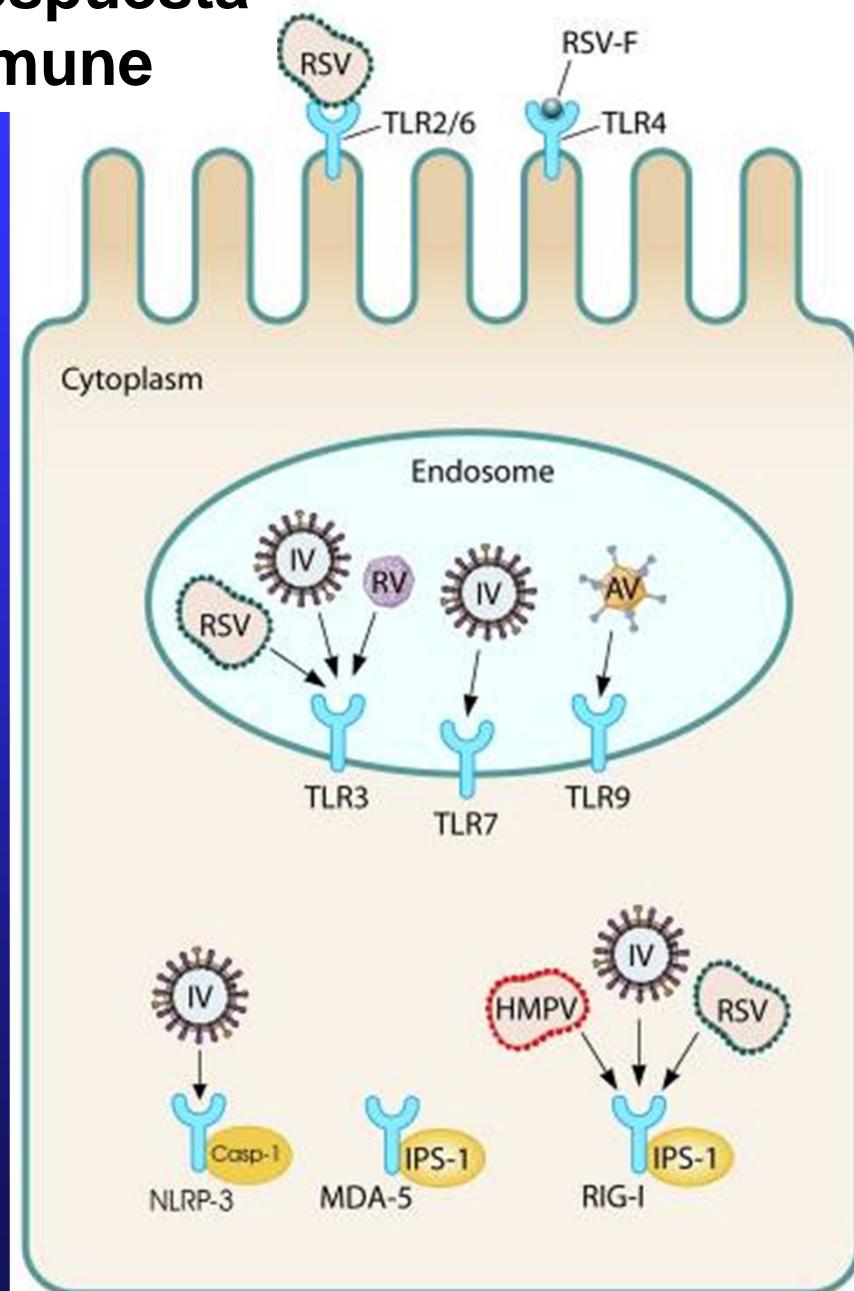
Patogénesis

Mecanismos de daño **directos** e **indirectos** coexisten. Sin embargo, la mayoría de las secuelas clínicas y el daño a las células respiratorias resultan de la respuesta inmune.

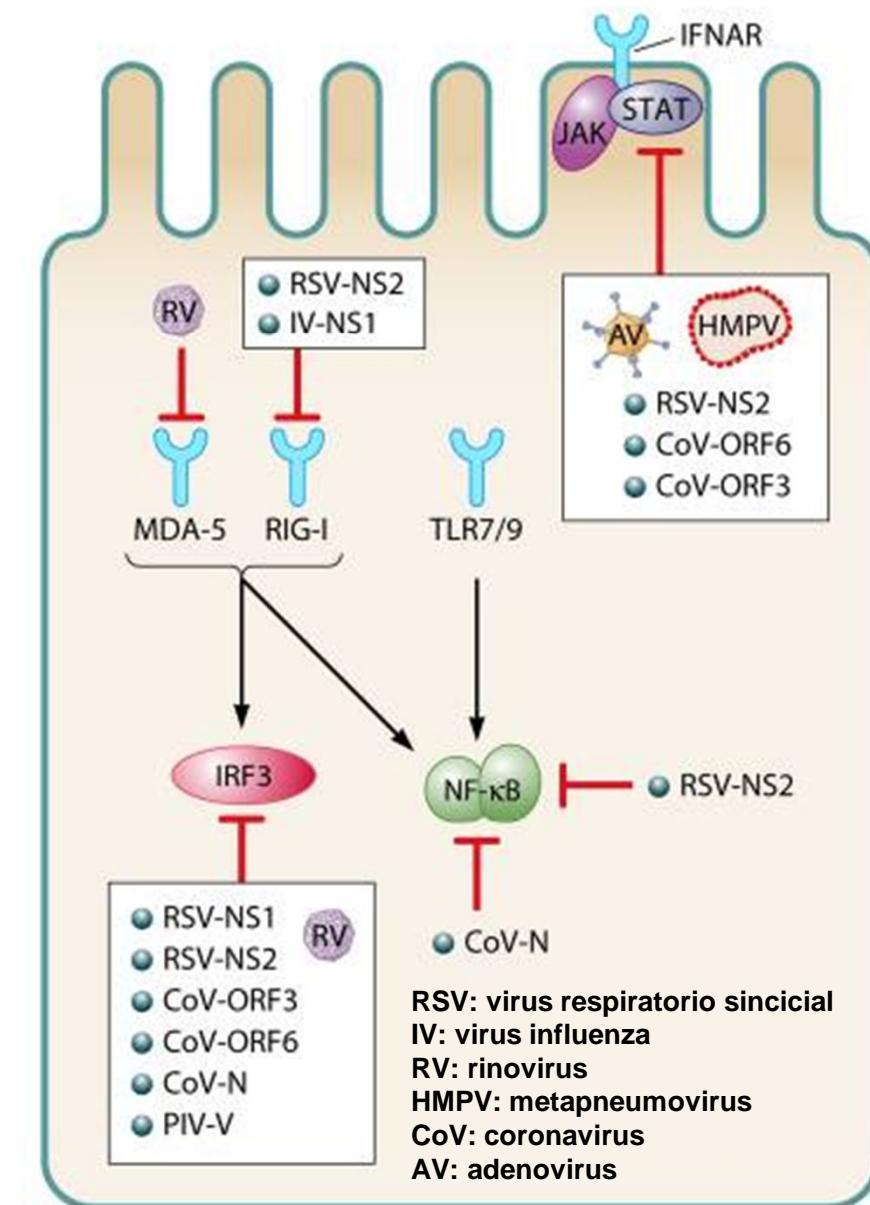
Factores asociados a enfermedad y su impacto en niños



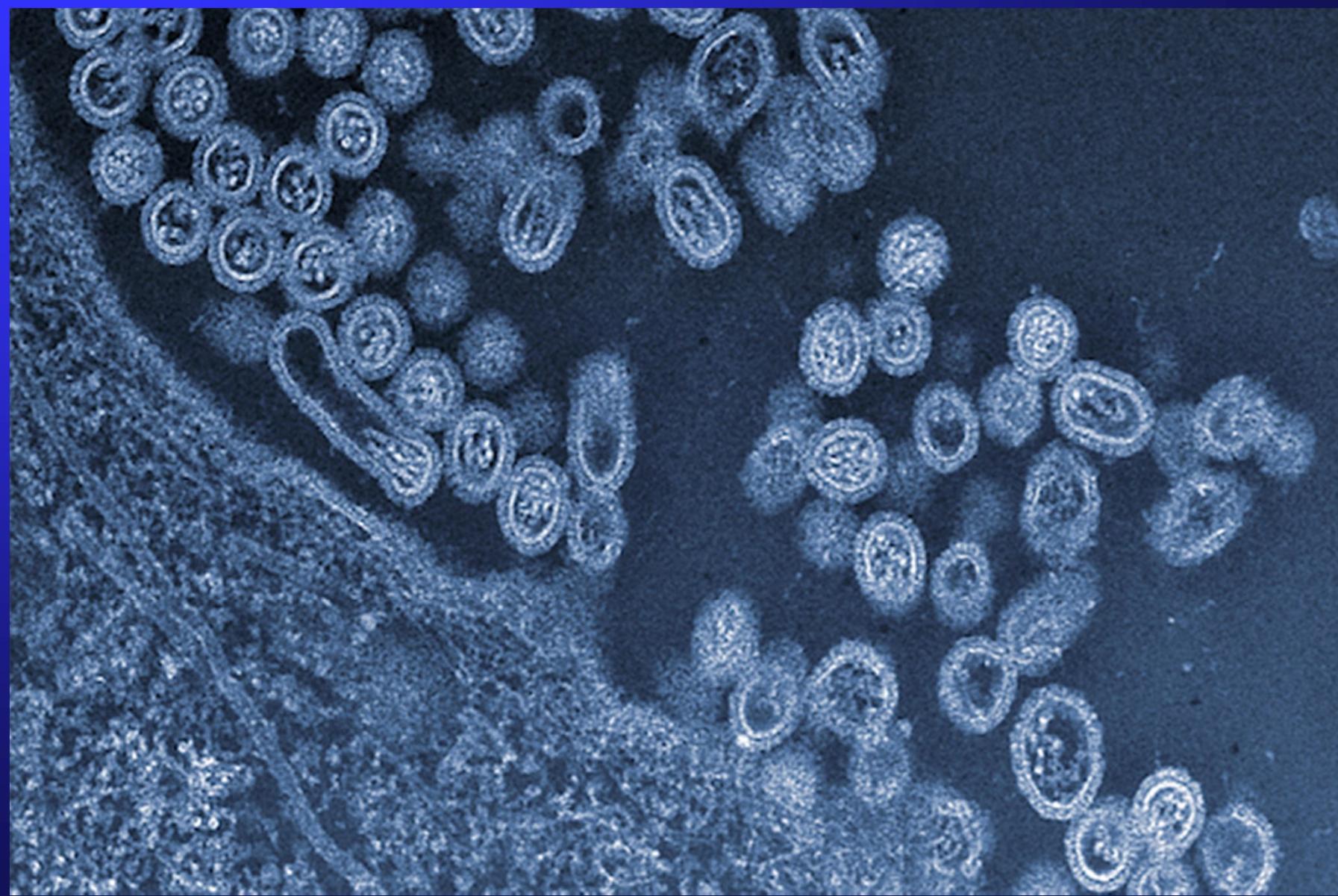
Respuesta inmune



Evasión



Virus influenza



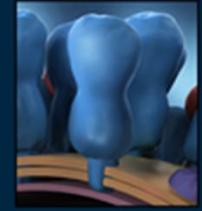
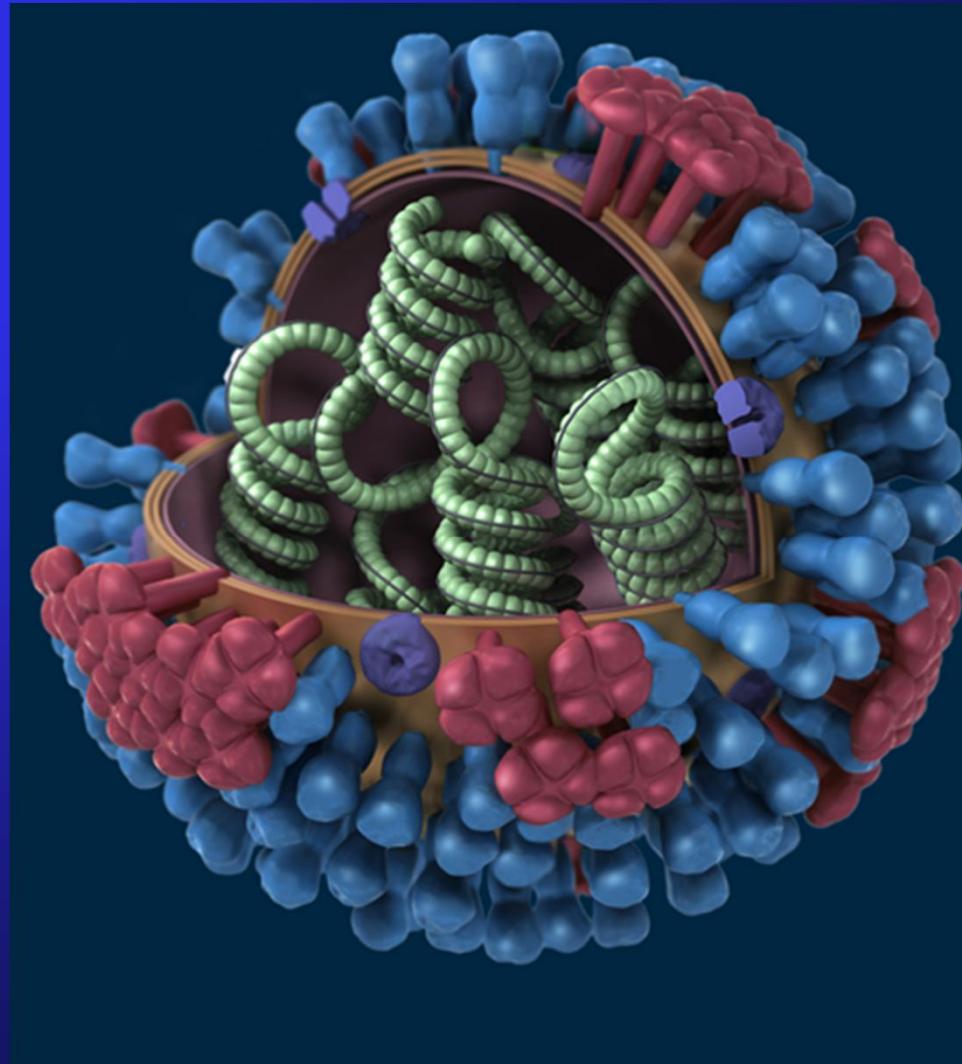
Virus influenza: estructura de la partícula viral

Familia:

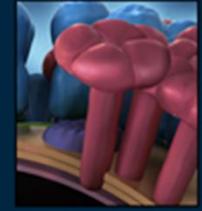
Orthomyxoviridae

Géneros:

- *Influenzavirus A*
- *Influenzavirus B*
- *Influenzavirus C*
- *Thogotovirus*



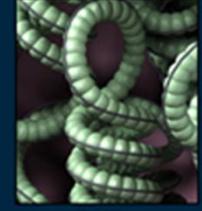
Hemagglutinin



Neuraminidase



M2 Ion Channel

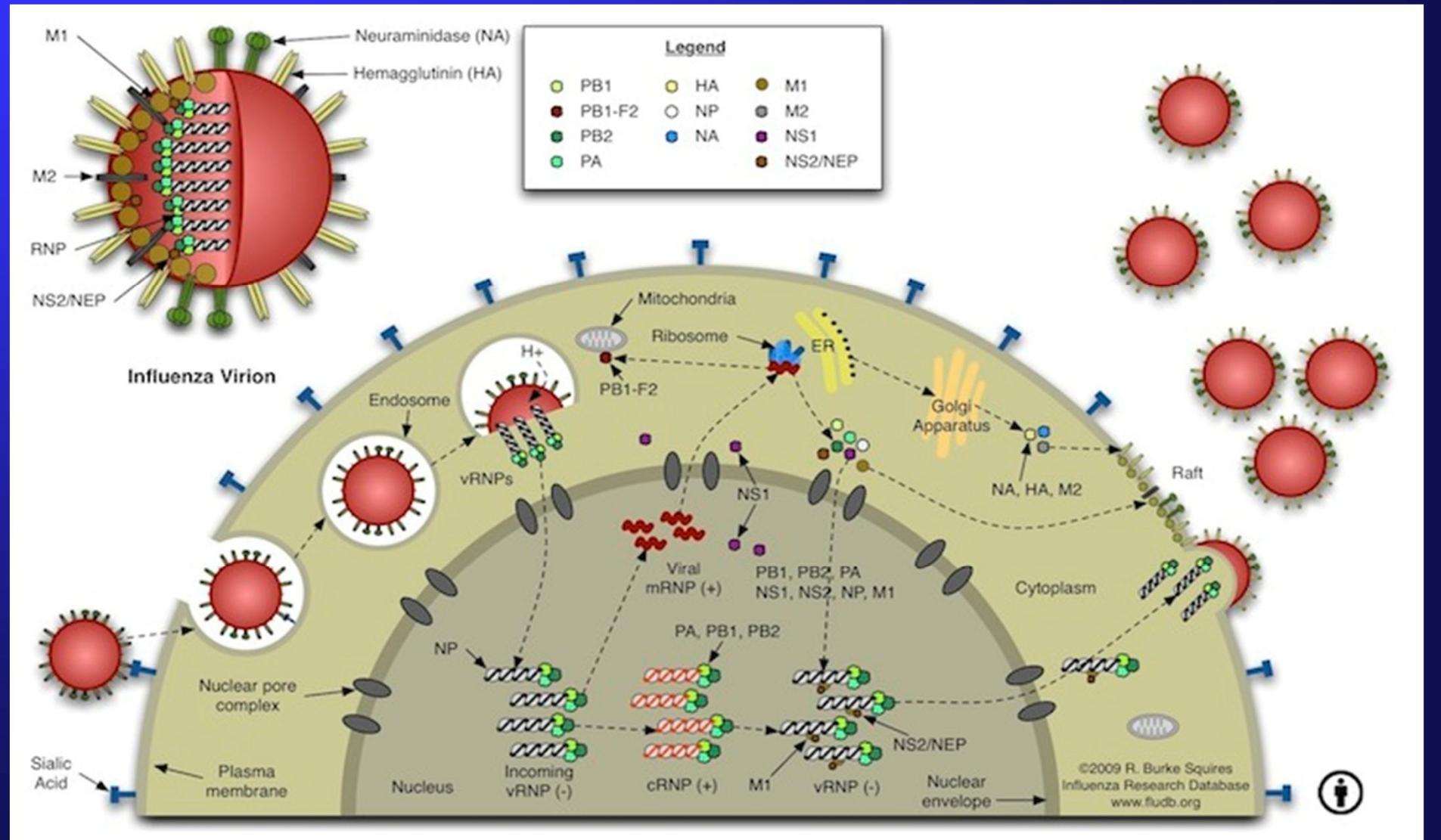


RNP

Hemaglutinina: H1-H16

Neuraminidasa: N1-N9

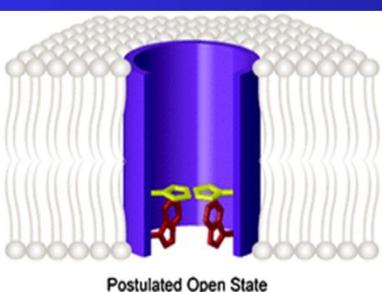
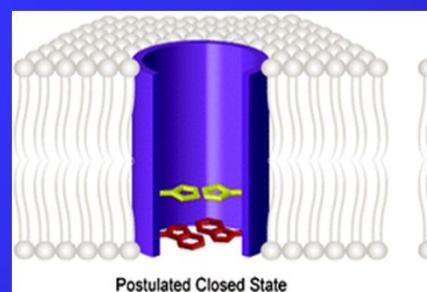
Virus influenza: receptores y ciclo de replicación



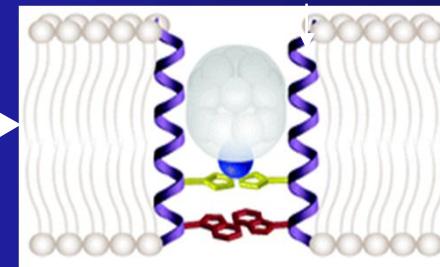
Tomado de reactome.org. DOI 10.3180/REACT_6145.3

Blancos de acción de los antivirales

Canal M2

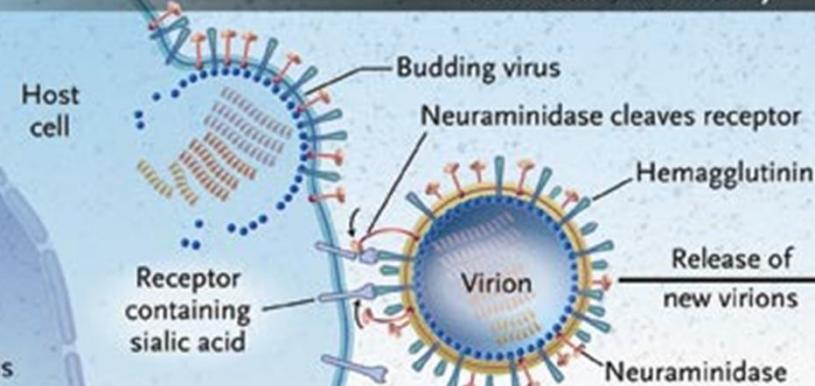


Amantadina



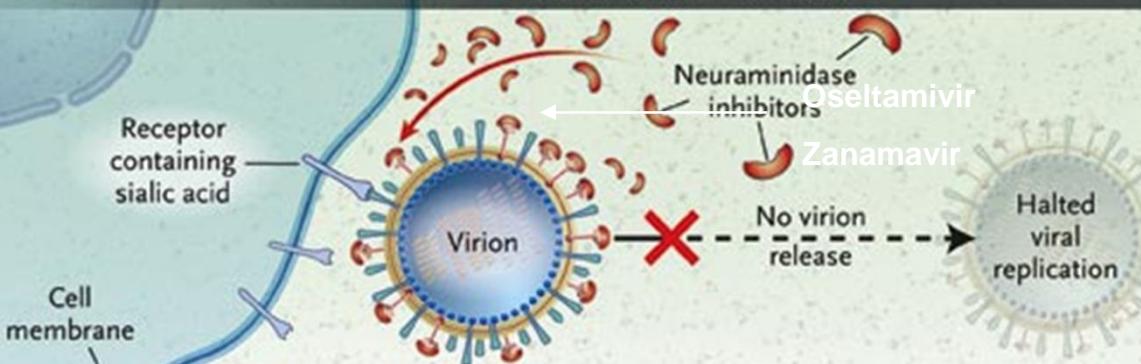
A

Neuraminidase activity



B

Neuraminidase inhibitor



Moscona A. *N Engl J Med.* 2005;353:1363-1373

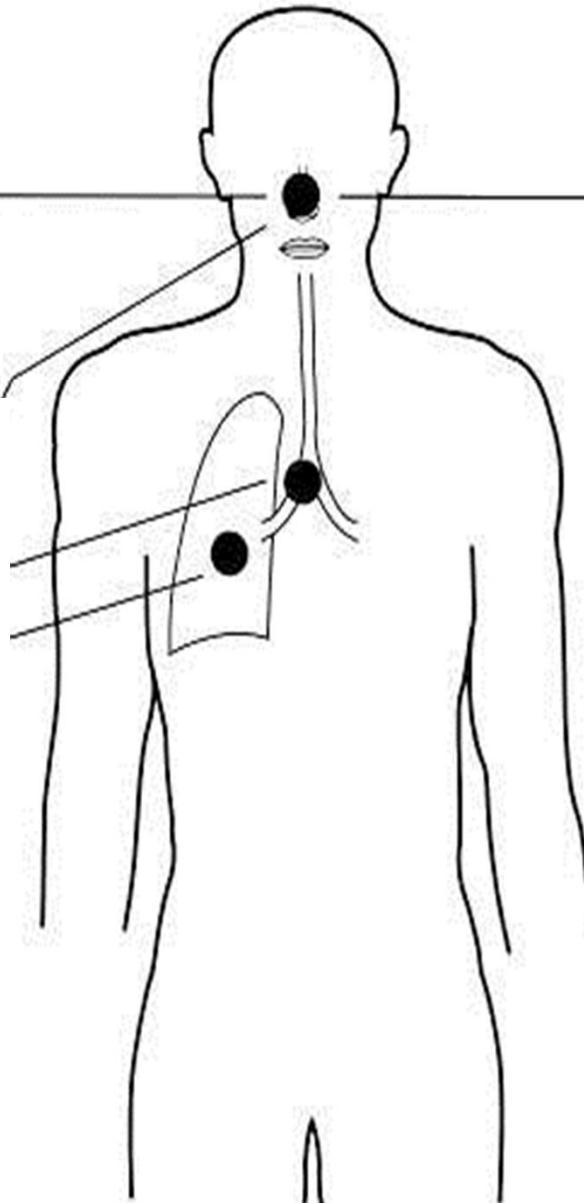
Cuadros clínicos

Salida

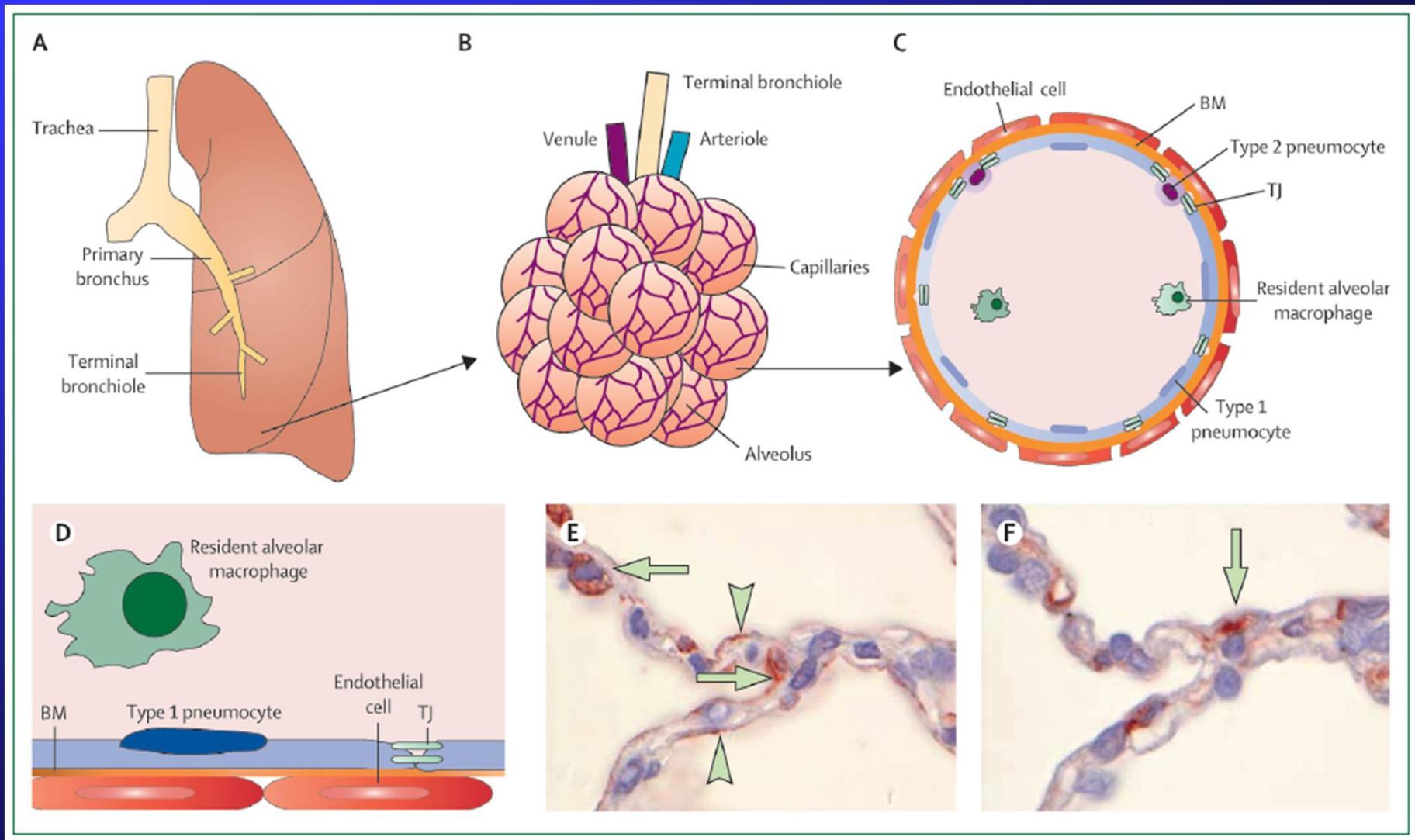
Faringitis
Laringotraqueobronquitis

Bronquitis
Bronquiolitis
Neumonía

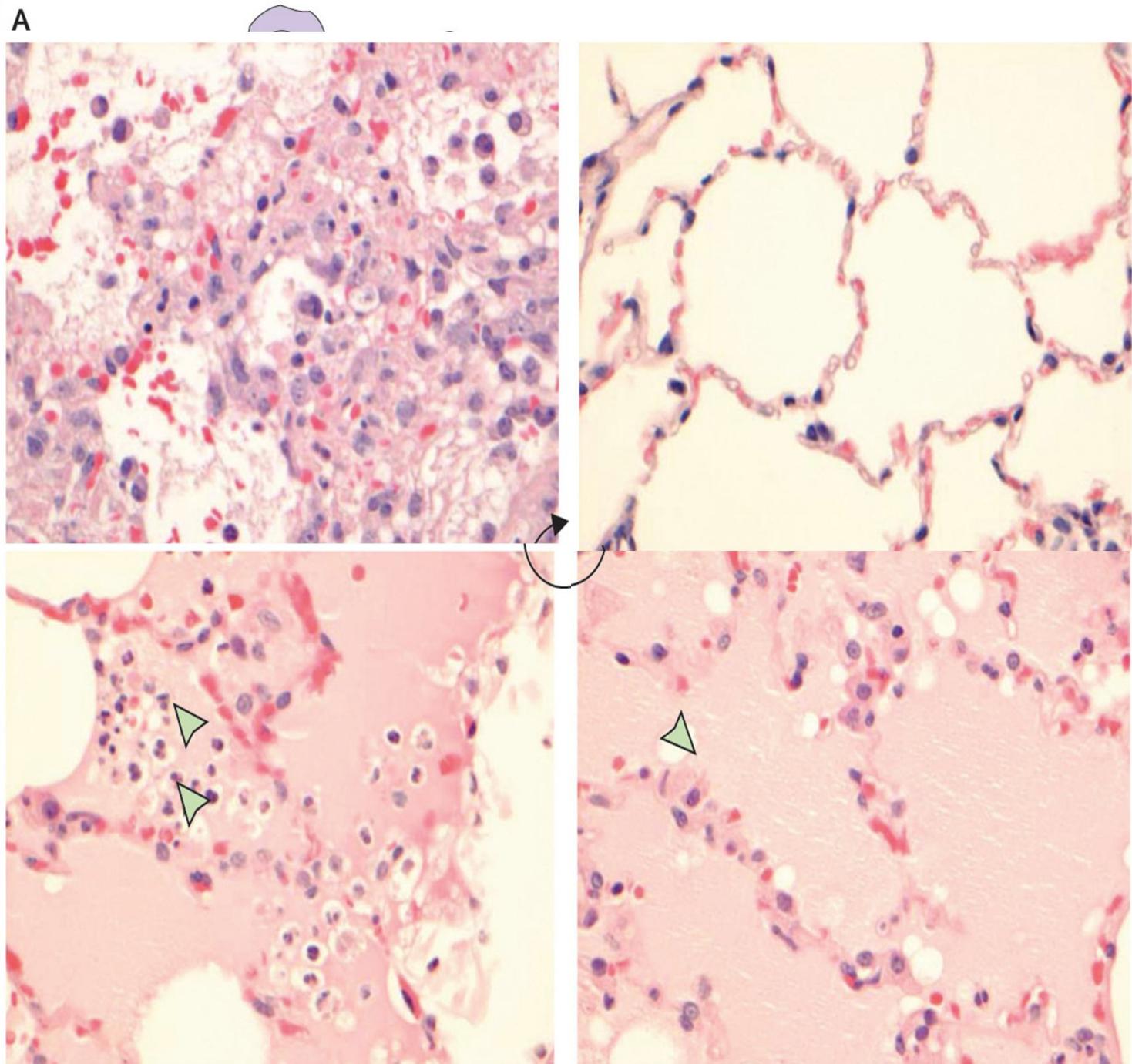
Entrada



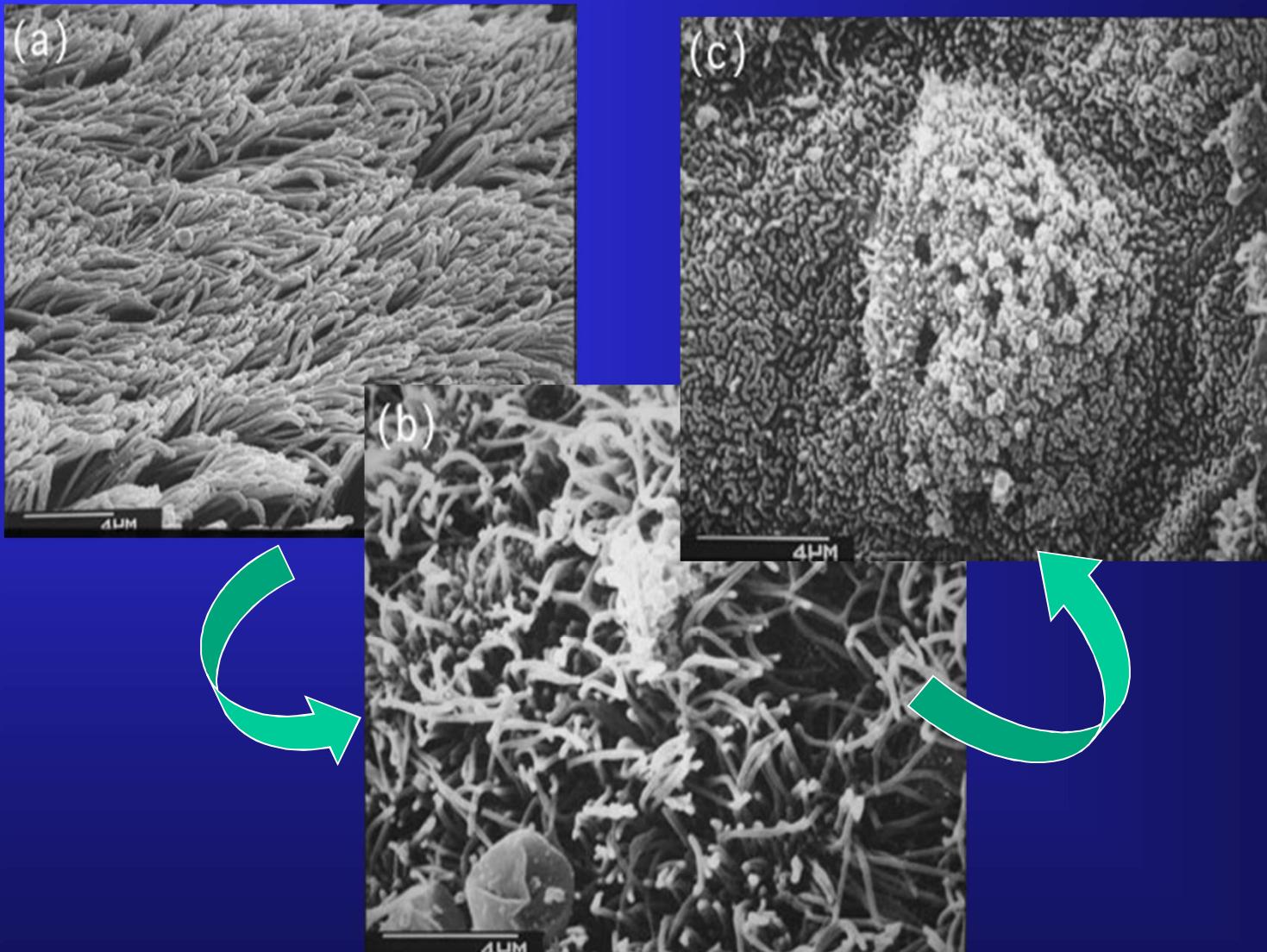
Barrera epitelial-endotelial en el tracto respiratorio

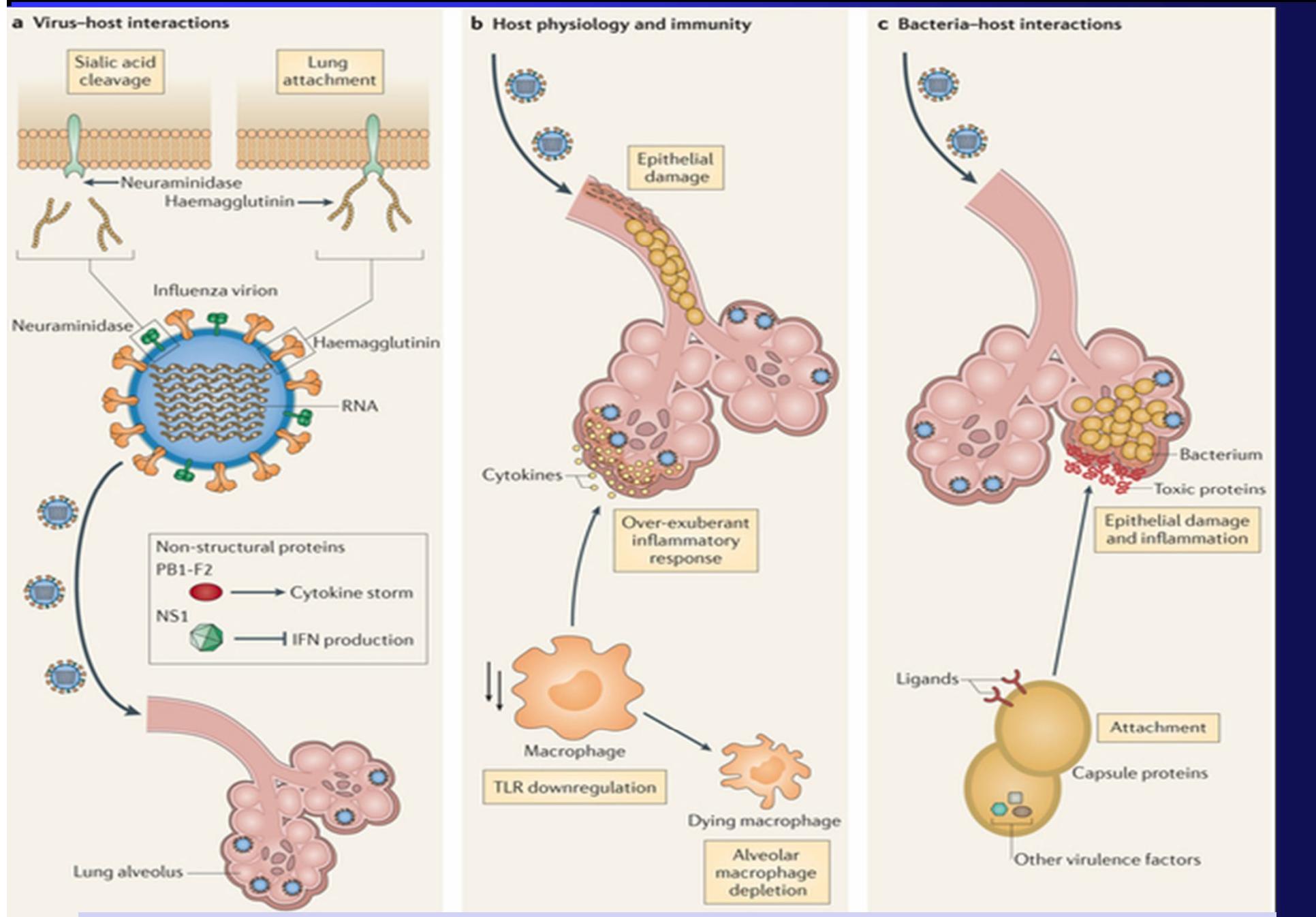


Patogénes rol de células alveolares epiteliales y endoteliales



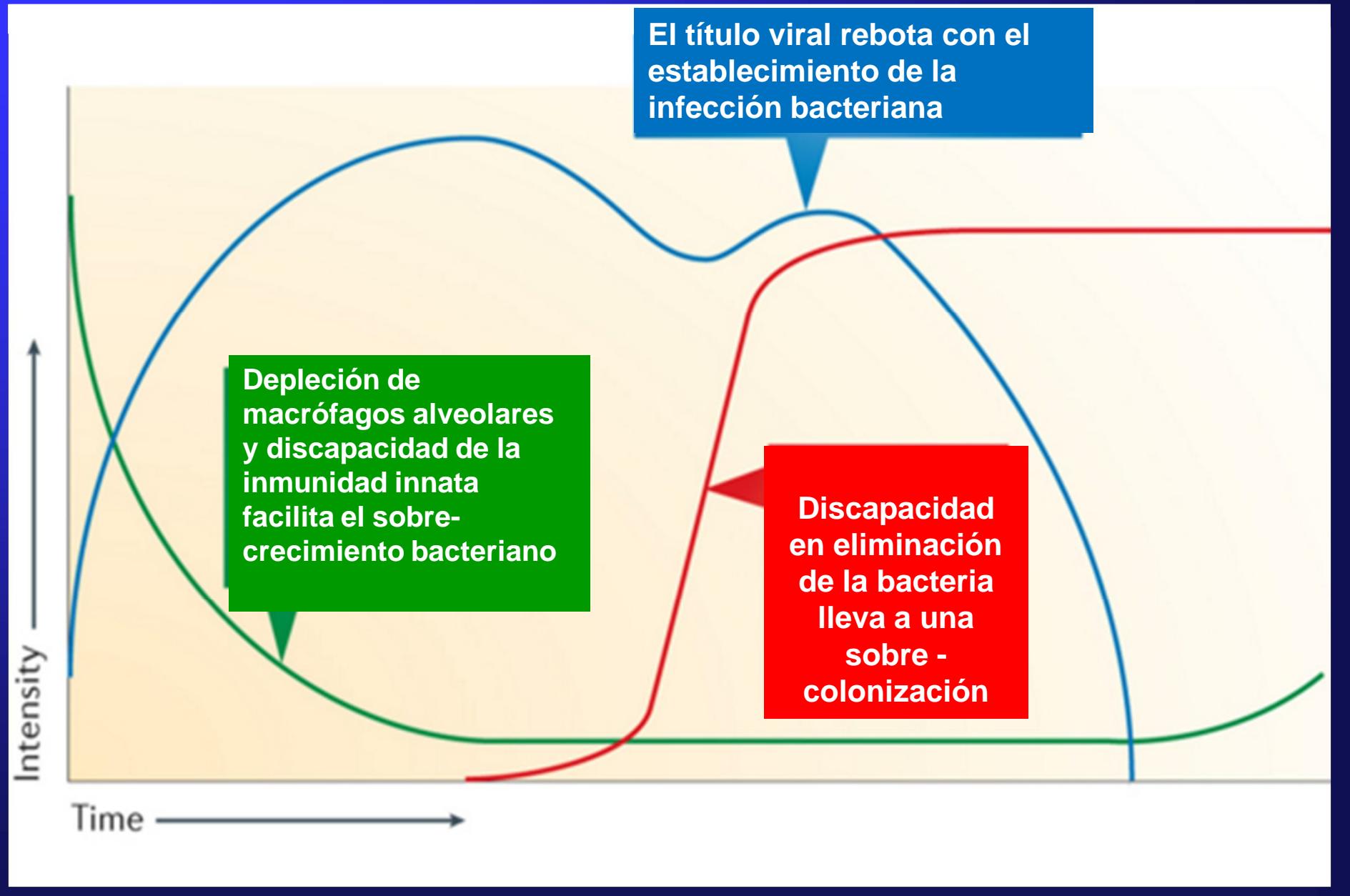
Virus influenza: patogénesis a nivel celular





Virus influenza: co-patogénesis de influenza y bacterias

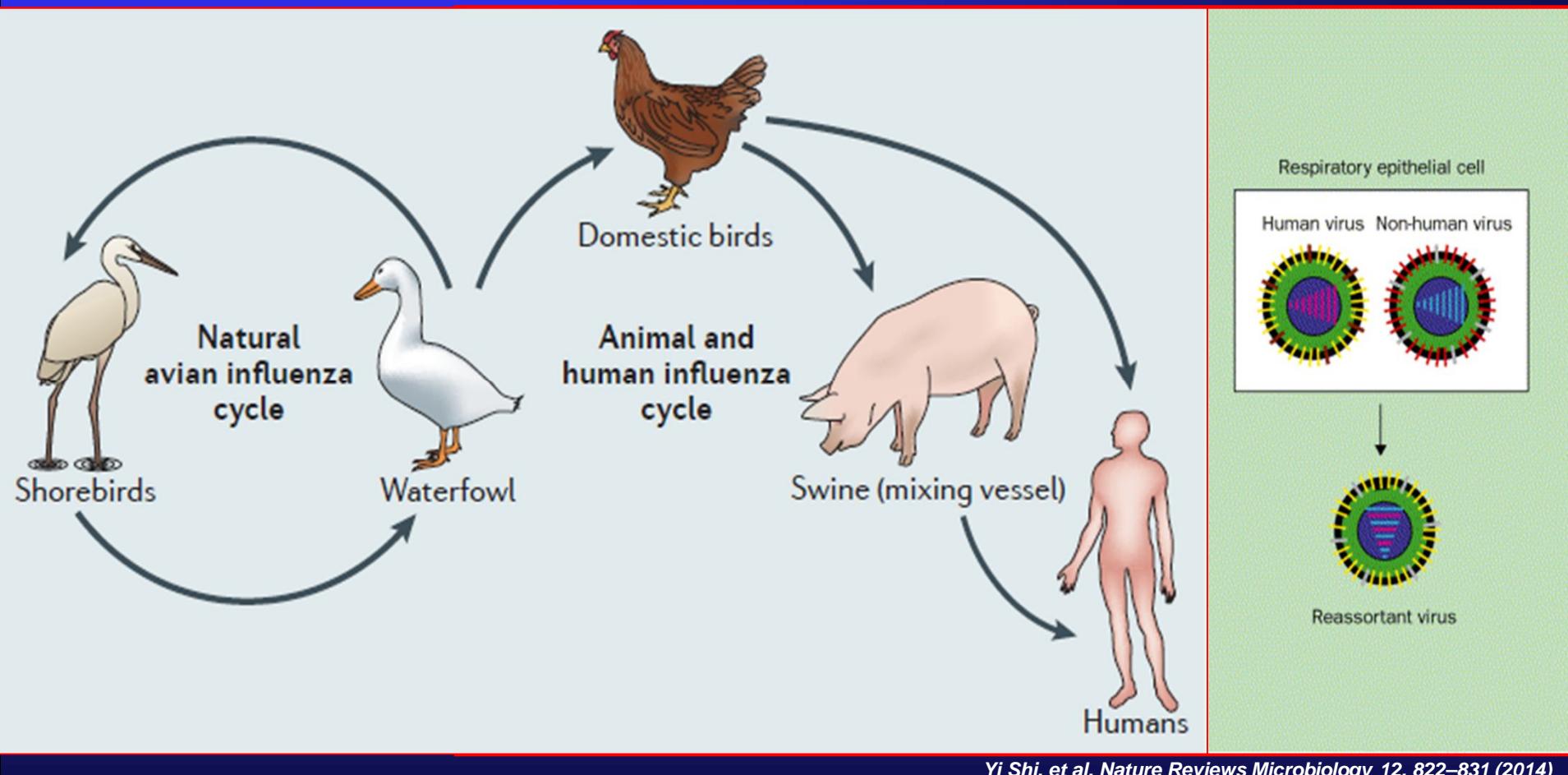
Co-patogénesis de virus influenza y bacterias



Virus influenza: mecanismos de variabilidad

CAMBIOS MENORES (*drift*) por mutaciones puntuales en el genoma → eventos estacionales

CAMBIOS MAYORES (*shift*) por re-asociación de segmentos genómicos → eventos pandémicos



DRIFT ANTIGÉNICO

O Variaciones menores

- Proceso continuo y gradual.
- Resulta de la acumulación de mutaciones puntuales en los genes de HA y NA durante la replicación viral.
- Permite infecciones repetidas a lo largo de la vida y los brotes recurrentes
- La vacuna se actualiza 2 veces al año.

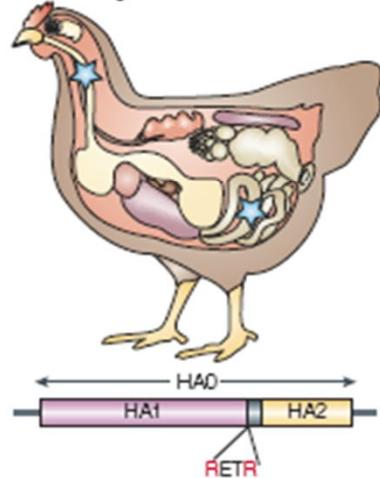
SHIFT ANTIGÉNICO

o Variaciones mayores

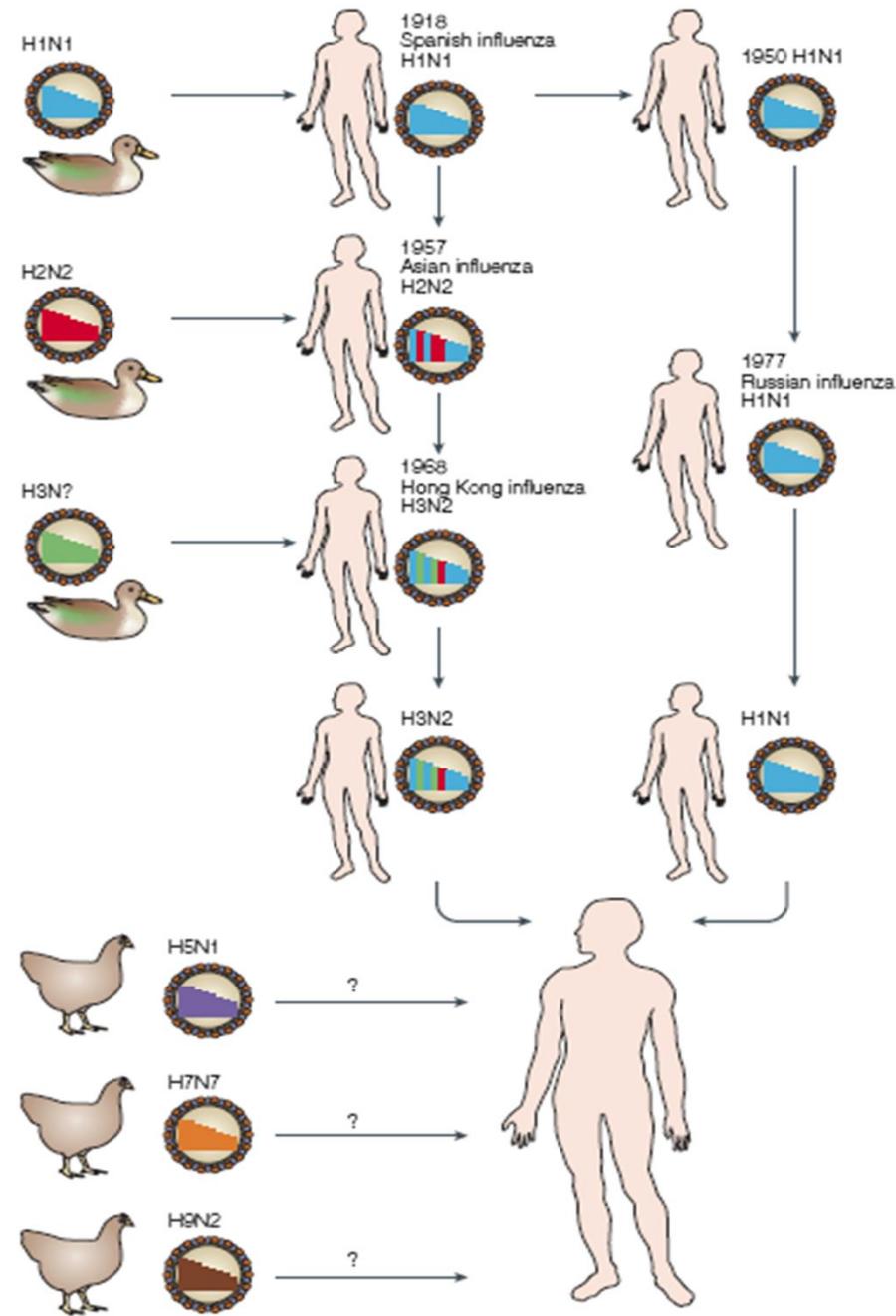
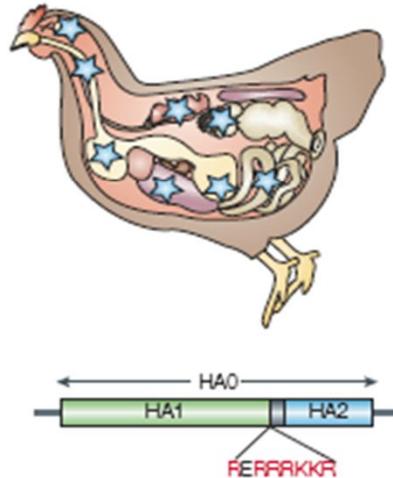
- Cambio de HA, NA, o ambas
- > 50 % diferente a cepas anteriores
- Re-asociación
- Adaptación de un virus de un huésped no humano
- Evento esporádico
- Puede resultar en una **pandemia**

Evolución del virus influenza

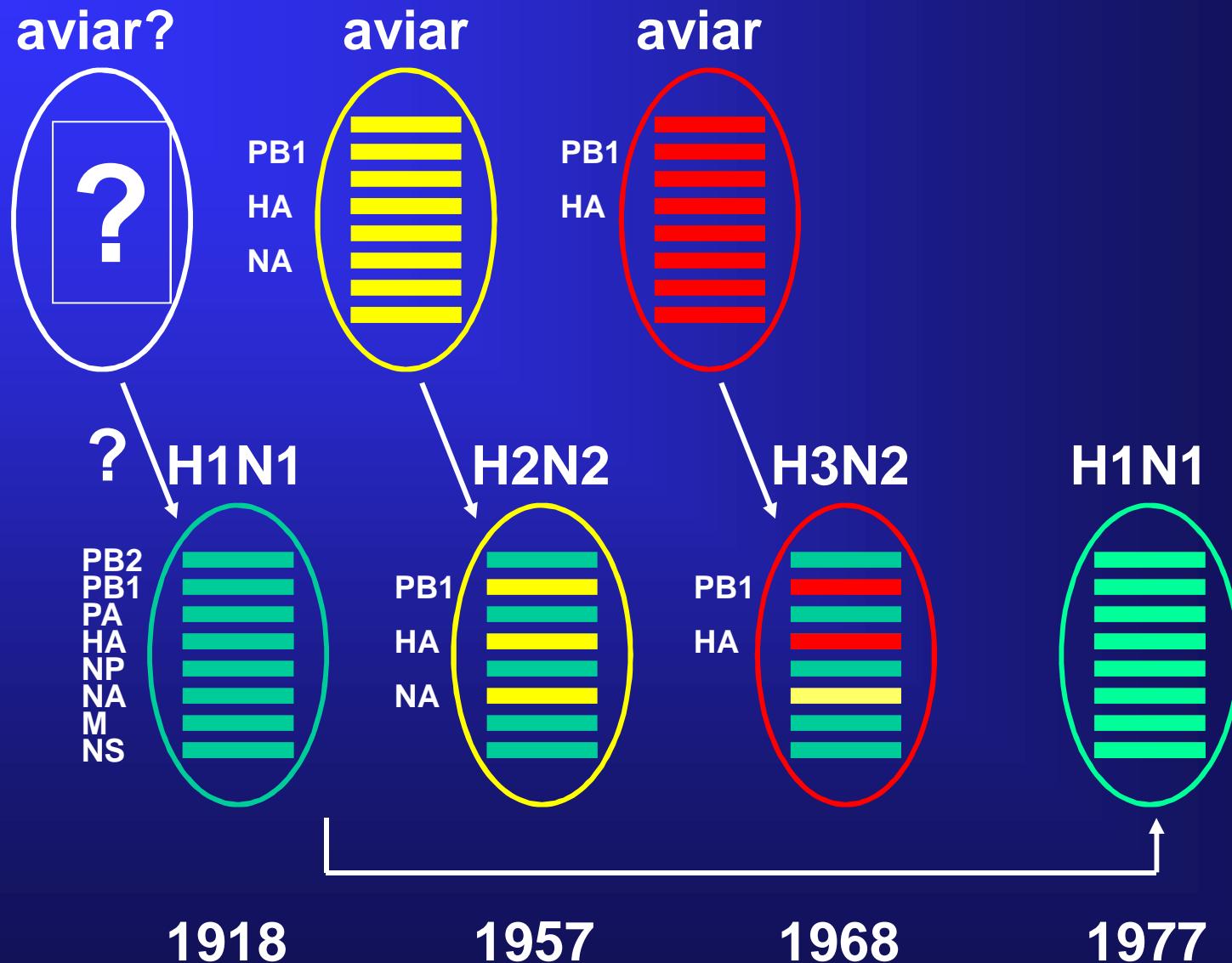
LPAI
Proteases localized in respiratory and intestinal organs



HPAI
Ubiquitous proteases



Virus Influenza A pandémicos



Emergence of a Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus in Humans

Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team*

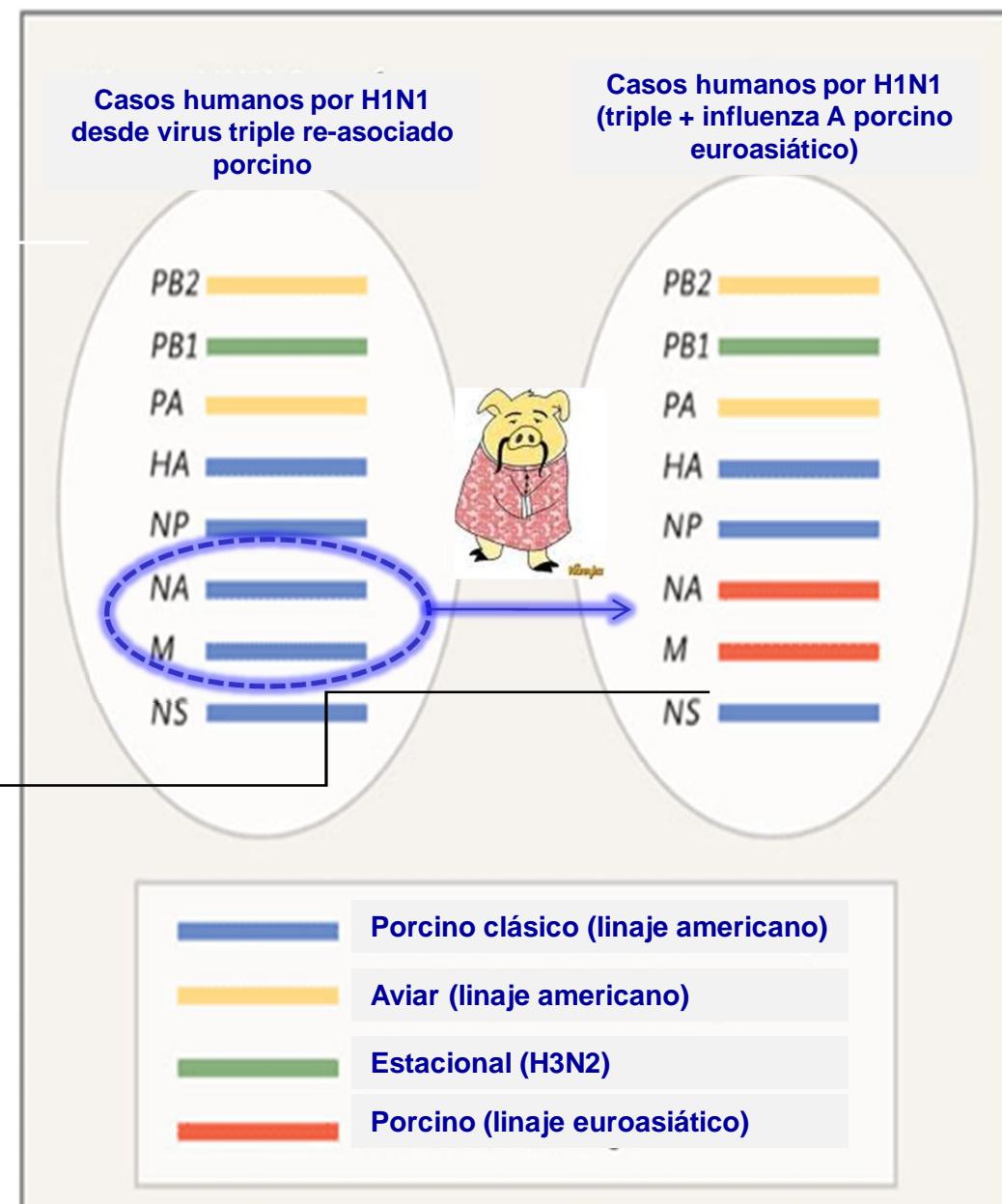
Reasociación de
virus de origen
porcino, humano,
aviar

Epidémico en cerdos (interhumana
poco eficiente)

Reasociación de
virus de origen
porcino, humano,
aviar

No epidémico en cerdos
(transmisión interhumana eficiente)

Virus influenza A (H1N1v): la pandemia de 2009

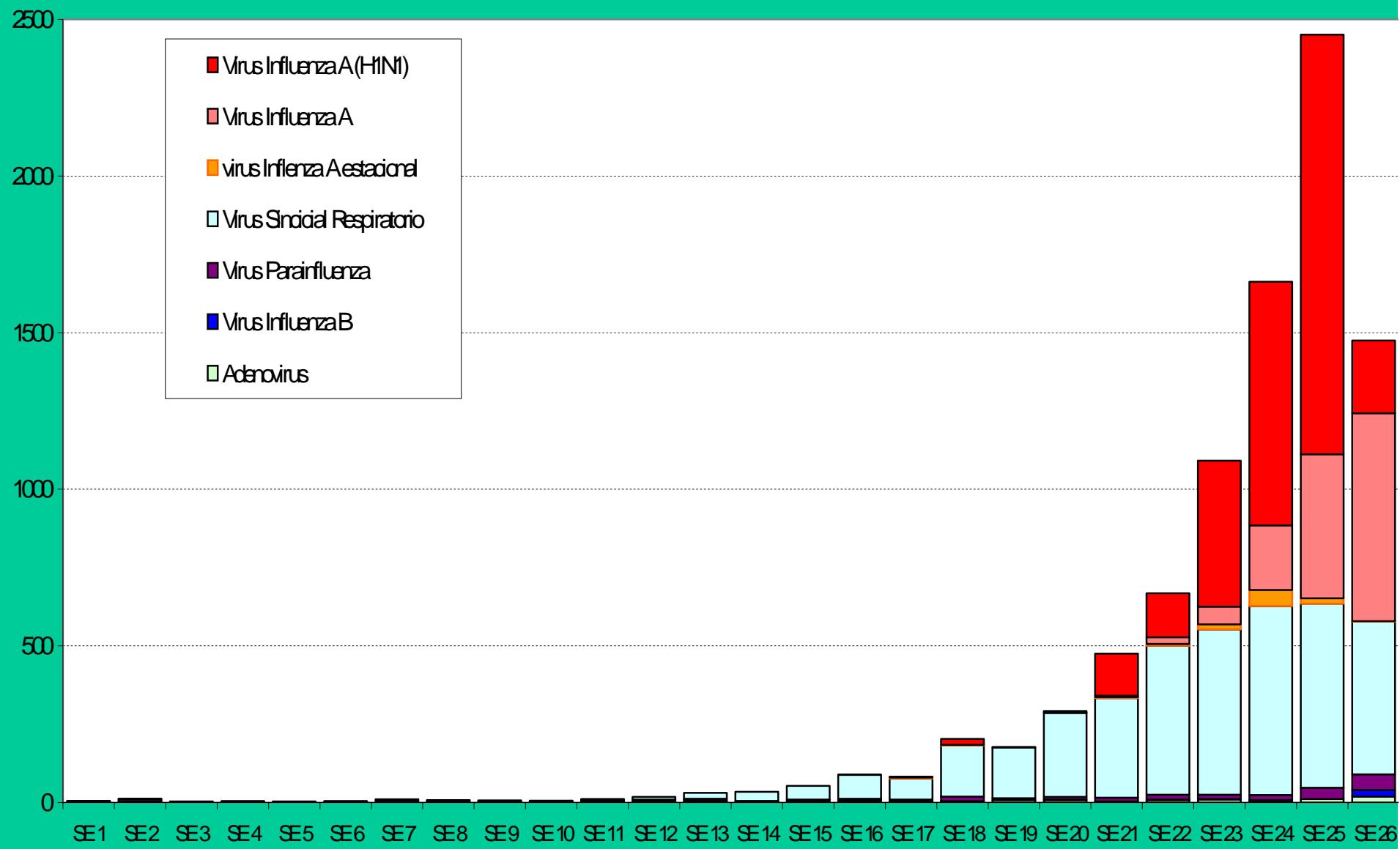


¿Qué se requiere para que se desencadene una **pandemia**?

- Emergencia de una nueva cepa de influenza con una nueva HA o una nueva HA y NA (*shift antigénico*)
- Susceptibilidad de la mayoría de la población para la nueva cepa
- Transmisión inter-humana eficiente del nuevo virus
- Brotes simultáneos en el Mundo
- Elevadas tasas de morbilidad y mortalidad
- Comienzo de una nueva era viral

Virus influenza: pandemia del 2009

Identificación viral por semana epidemiológica- Argentina - 2009



Fuente: Ministerio de Salud de la Nación

Vacuna anti-influenza

- Vacuna trivalente
- H (hemaglutinina) y N (neuraminidasa) obtenidas de virus inactivados.

En Julio 2016 la composición era:

- A/California/7/2009 (H1N1)-símil virus;
- A/Hong Kong /4801/2014 (H3N2)-símil virus
- B/Brisbane/60/2008-símil virus.

Indicación del uso de vacuna influenza

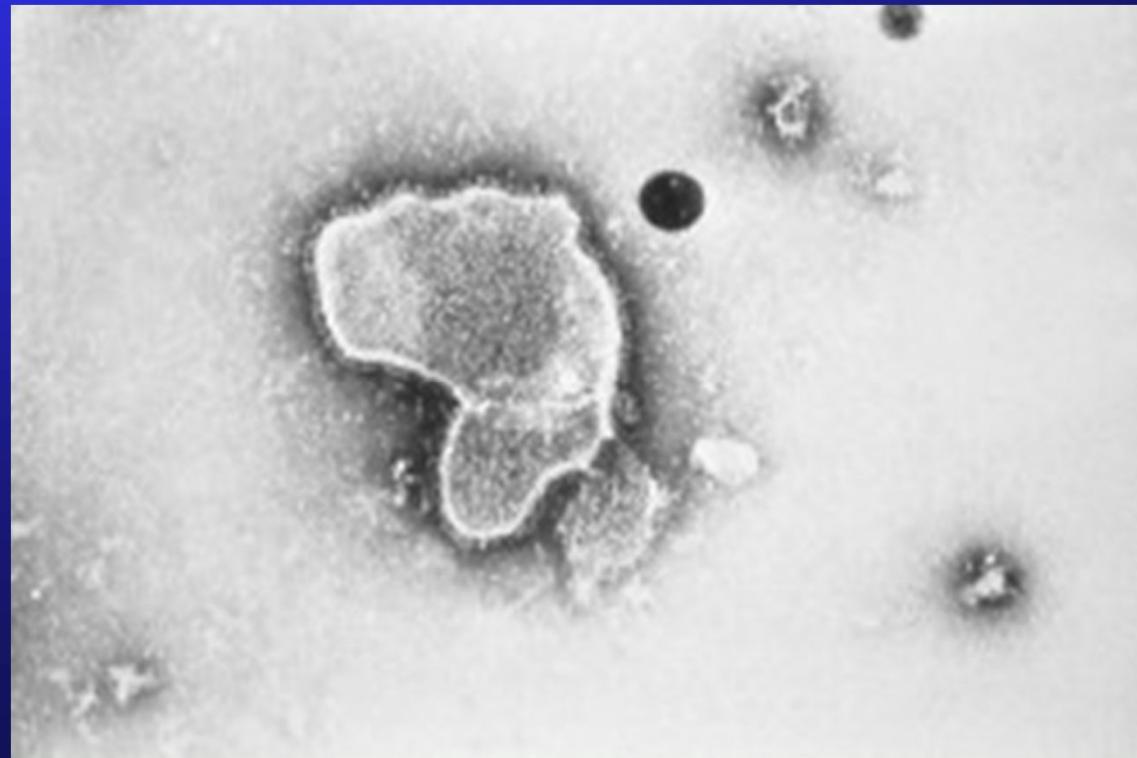
1. Adultos mayores de 65 años
2. Mujeres en segundo y tercer trimestre de embarazo
3. Niños entre 6 meses y 2 años
4. Personal de salud y cuidadores de hogares de ancianos
5. Personas, adultos y niños, en riesgo de complicaciones por influenza

Personas, adultos y niños, en riesgo de complicaciones por influenza

- - Enfermedades pulmonares crónicas
 - Cardiopatías congénitas o adquiridas
 - Terapia crónica con esteroides
 - Terapia crónica con aspirina
 - Pacientes con trasplantes de órganos sólidos, o médula ósea.
- - Pacientes inmuno-comprometidos con terapia inmunosupresora actual.

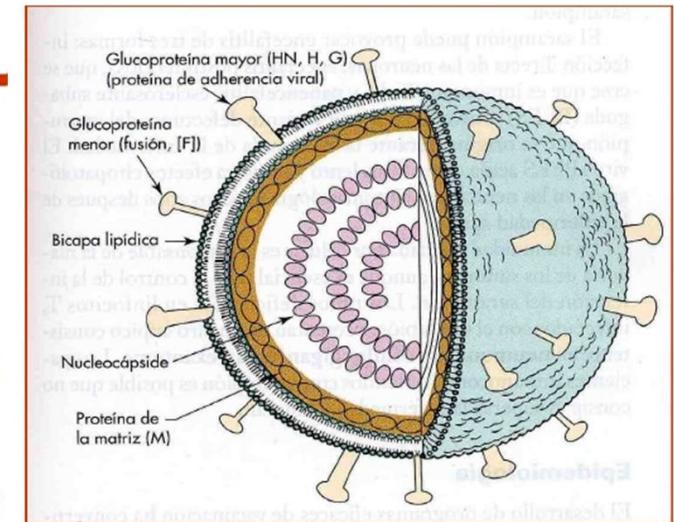
En estos casos la respuesta humoral es mínima por lo que se recomienda vacunar también a todos los contactos intra-domiciliarios de estos pacientes de riesgo (padres, hermanos, cuidadores, personal de salud).

Virus Respiratorio Sincicial (VRS)

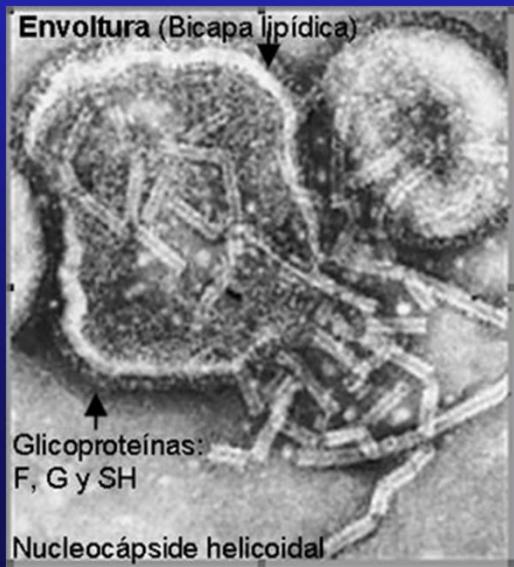
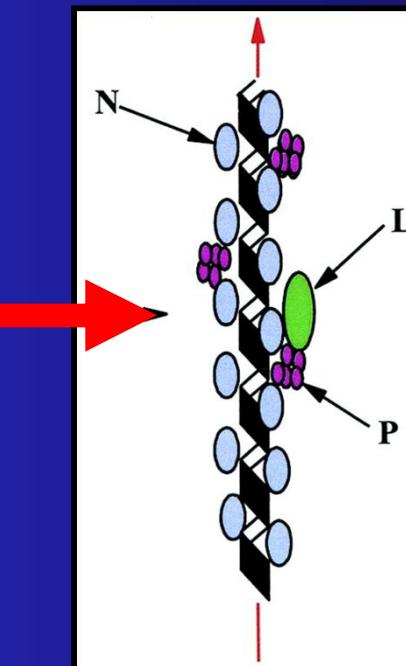
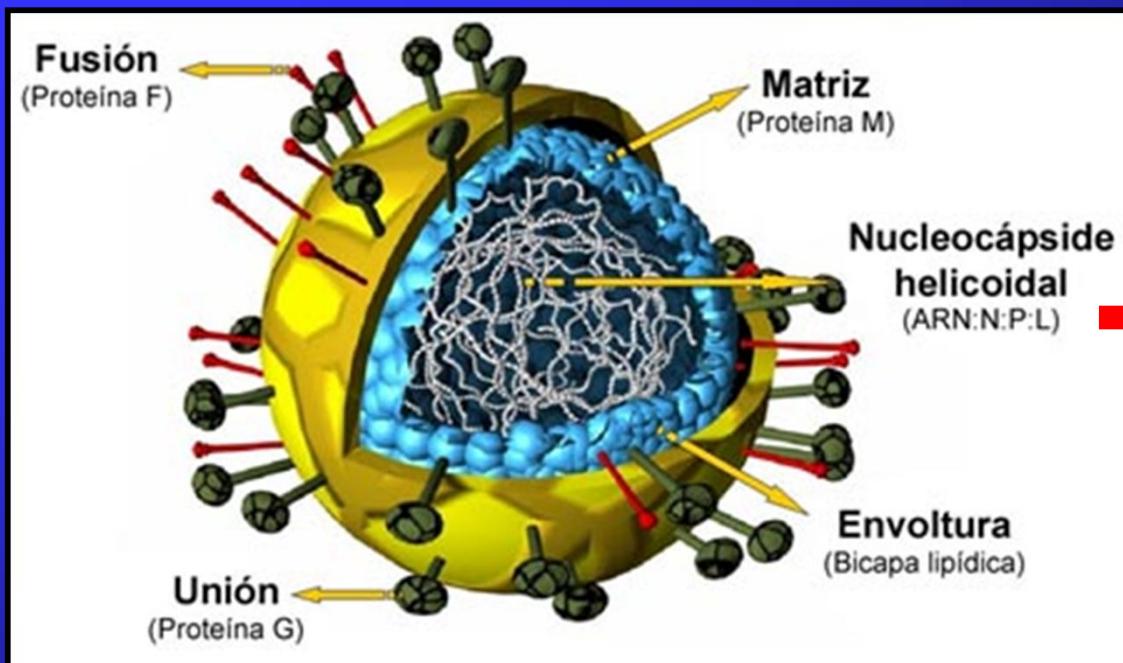


Familia: *Paramixoviridae*

- ✓ Género *Morbillivirus*
 - Virus del sarampión.
- ✓ Género *Paramixovirus*:
 - Virus de la parotiditis.
 - Virus Parainfluenza.
- ✓ Género *Pneumovirus*:
 - Virus Respiratorio Sincicial
 - Metapneumovirus



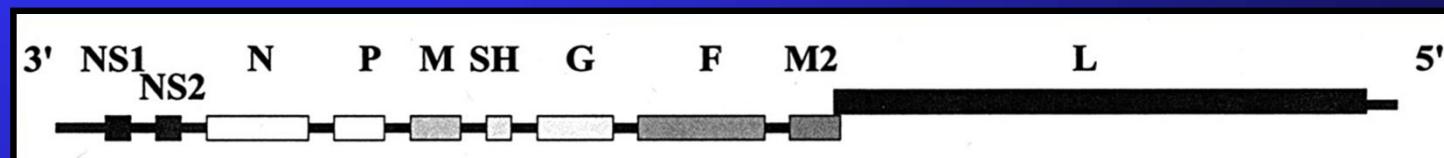
Ultraestructura



- 100-350 nm, envuelto
- Esférico o pleomórfico

Organización genómica y replicación

- Genoma RNA, monocatenario, polaridad negativa
- Proteínas: 2 no-estructurales y 8 estructurales
- Proteína G permite diferenciar los dos tipos de VRS: A y B (cada uno con diversos genotipos)

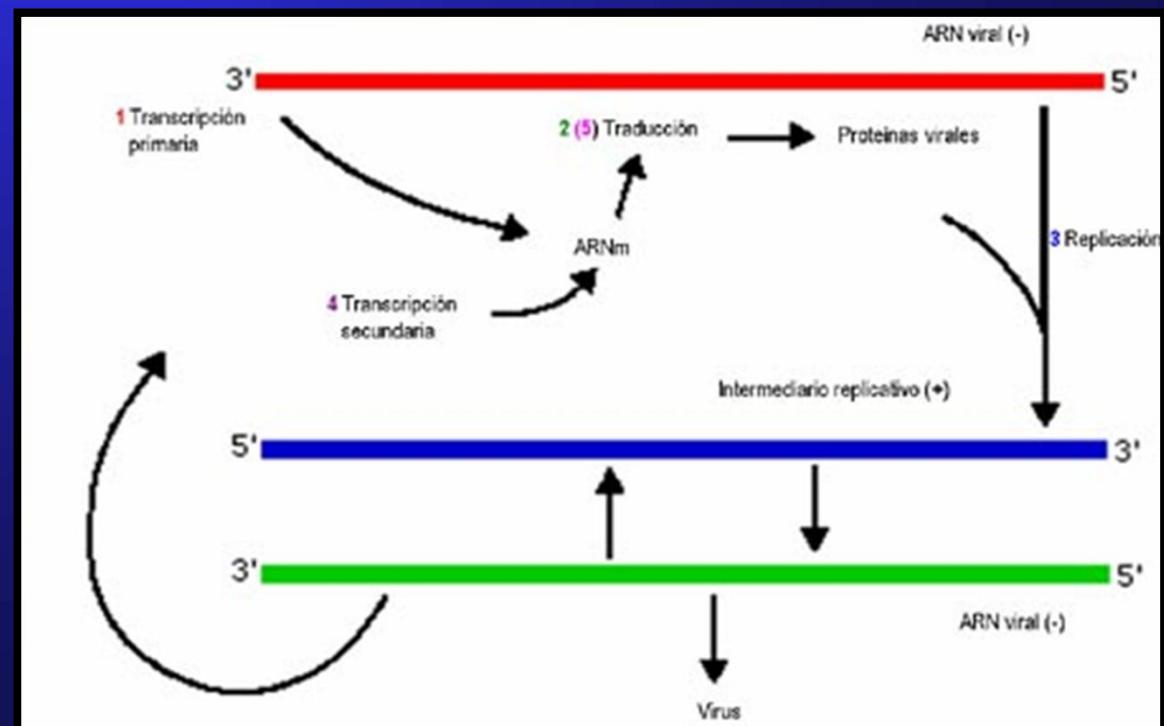


Replicación:
citoplasmática

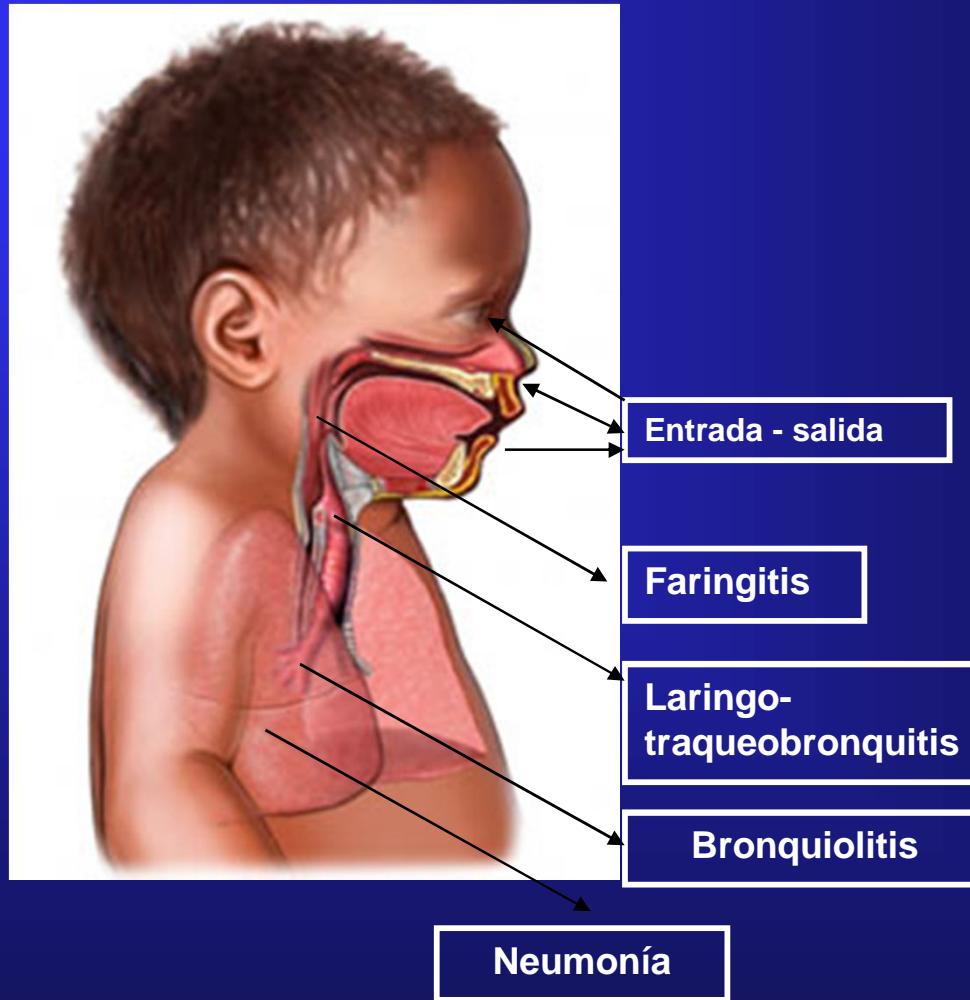
Proteína G: Adsorción
(GAGs, CX3CR1)

Proteína F: Fusión de
envolturas (unión al
TLR4)

Liberación: brotación
excluyente por polo
apical



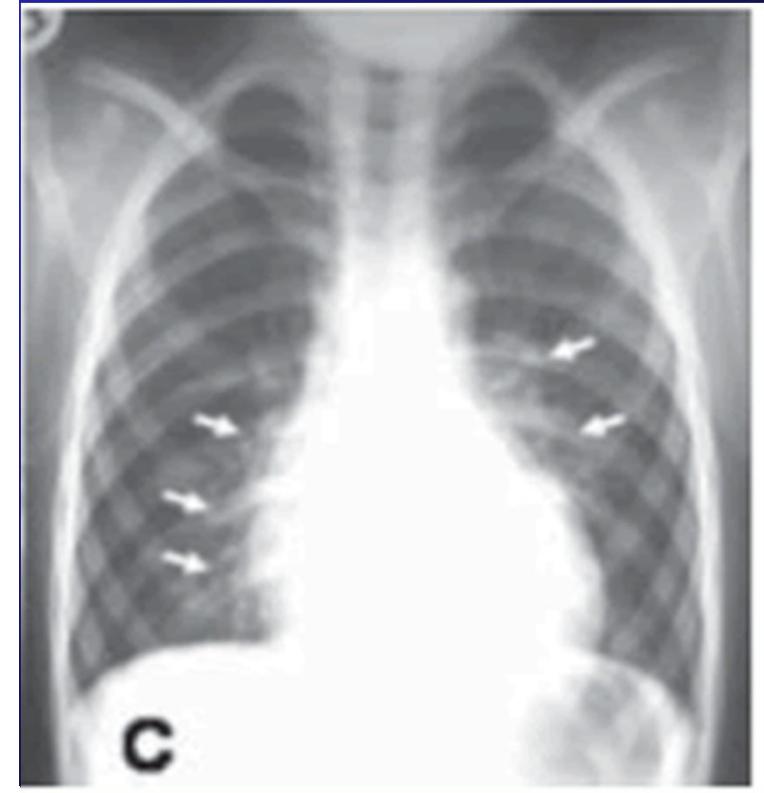
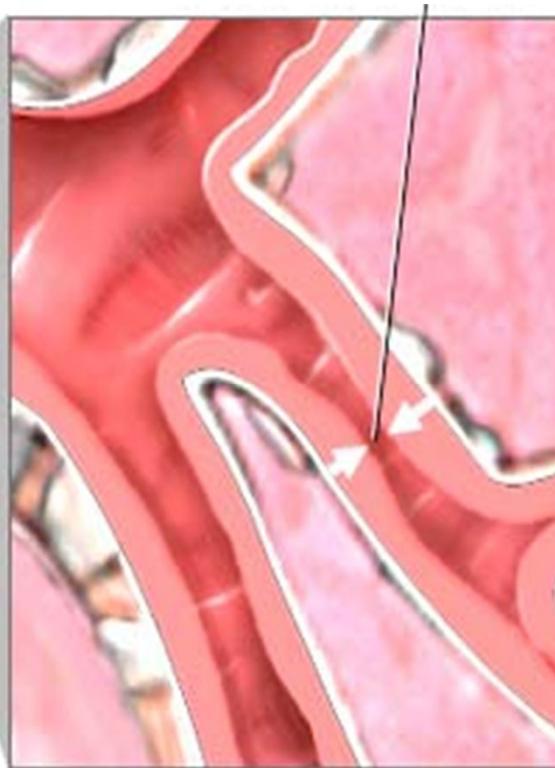
Patogénesis - Organismo



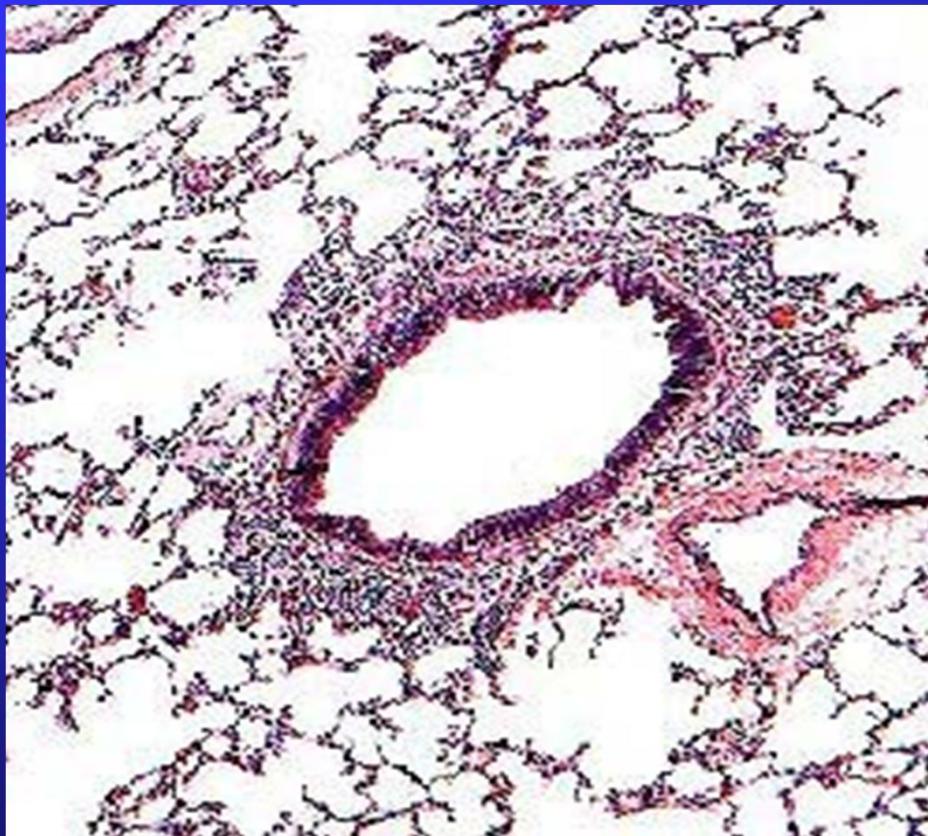
**INFECCIÓN AGUDA, LOCALIZADA en el
TRACTO RESPIRATORIO**

BRONQUIOLITIS

La bronquiolitis aguda es un diagnóstico clínico definido por “enfermedad viral estacional caracterizada por fiebre, rinorrea, tos seca y sibilante que al examen físico presenta rales inspiratorios finos y/o sibilancias espiratorias”.



Patogénesis de la bronquiolitis



- Necrosis epitelial vías aéreas pequeñas
- Destrucción de cilios
- Tapones mucosos
 - fibrina
 - detritus celulares
 - Edema
 - Inflamación neutrofílica

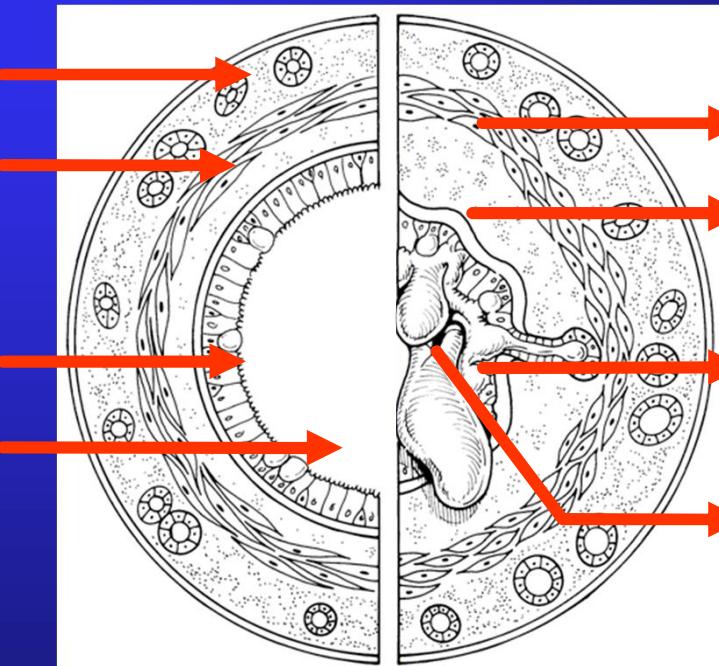
Vía aérea normal

Glándula mucosa

Músculo liso

Células epiteliales

Lumen despejado



Vía aérea **obstruida**

Broncoconstricción

Edema submucoso

Pérdida de células
ciliadas

Desechos
mucosos y
necróticos

Patogénesis - Celular

VRS infecta –
preferentemente - las células
del epitelio respiratorio de
nasofaringe

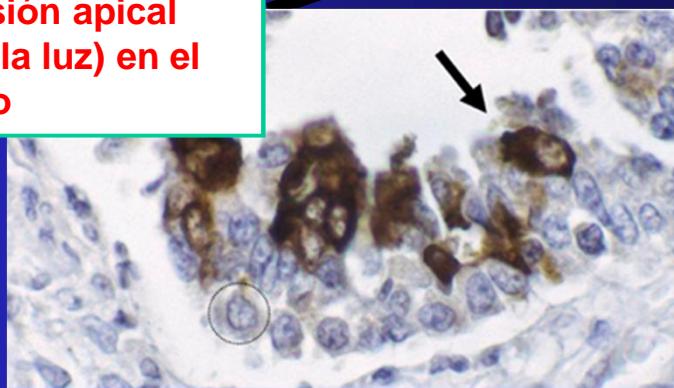
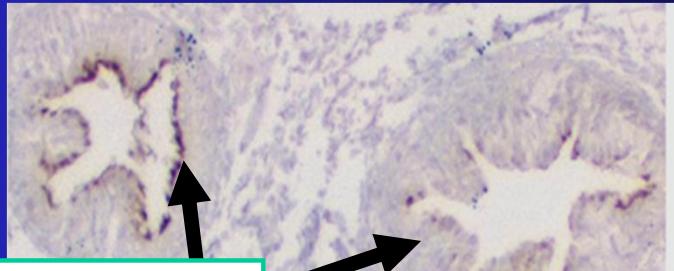


La infección por VRS es
detectada por la respuesta
inmune

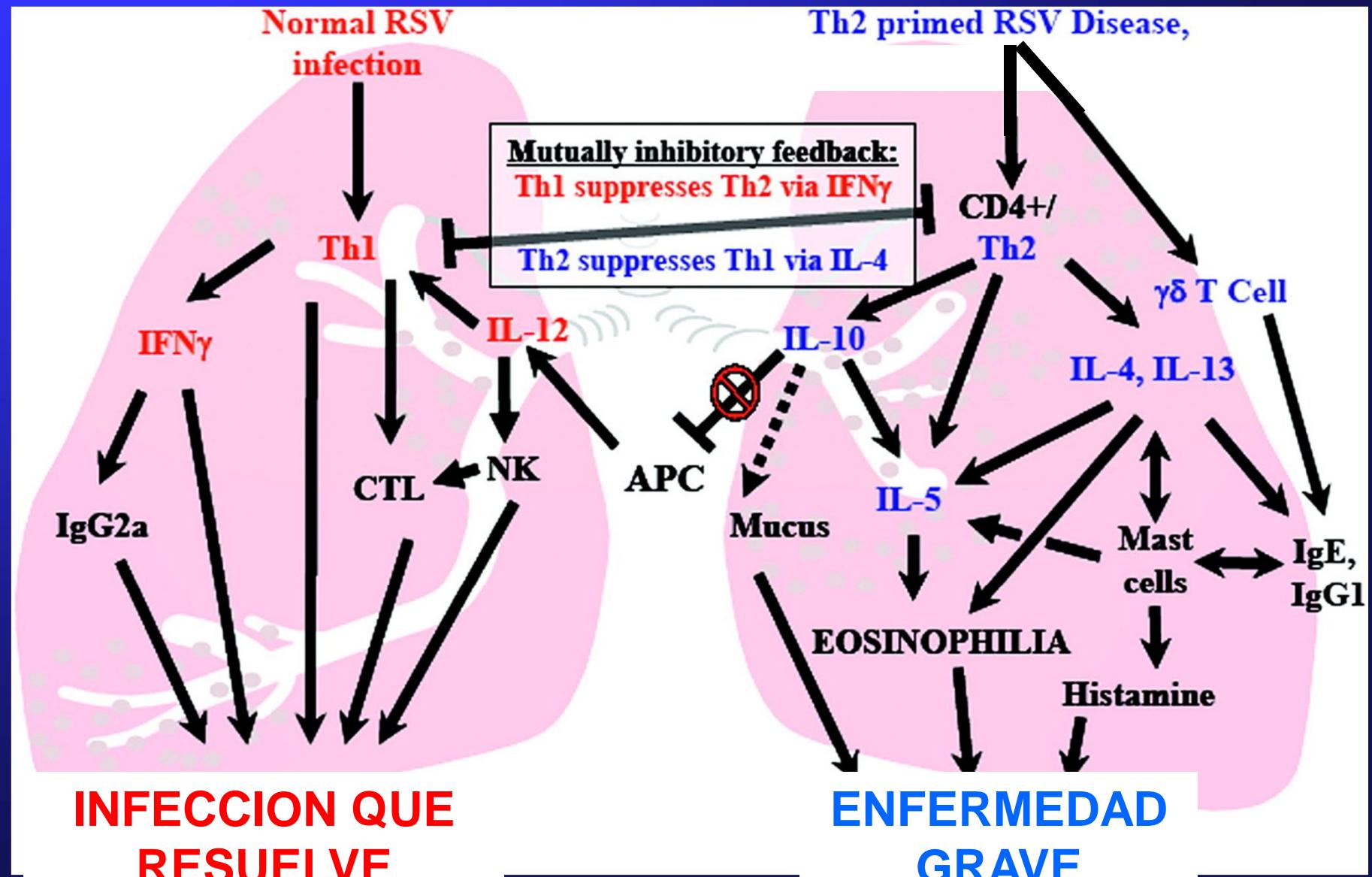
Efecto citopático
viral directo

Inmunopatología

Injuria celular
(acompañada de
la limitación de la
infección)



Mecanismos INMUNOPATOLÓGICOS



Epidemiología

IRAB en menores de 5 años

(Infección Respiratoria Aguda Baja)

- 50 % de las internaciones durante el período invernal
 - 15% de muertes post-neonatales
 - 70 % VSR
- 
-
- Principal causa de hospitalización en lactantes
 - Causa más frecuente de bronquiolitis en niños <1 año
 - Acs maternos de escasa protección y corta duración + variabilidad antigénica → reinfecciones (<severidad>)
 - Puede ser grave y fatal en niños de riesgo, en IC y ancianos
 - En adultos IRA alta y neumonía de la comunidad
 - Brotes estacionales (otoño – invierno)

TRATAMIENTO y PROFILAXIS PASIVA

Remoción de secreciones (kinesioterapia), oxígeno.

Hipoxia severa → ARM

Ribavirina



Análogo sintético de la guanosina;
efectos teratogénicos

Profilaxis pasiva

1 vez al mes en
bebés de alto
riesgo



Ac. anti F Monoclonal
Humanizado (Palivizumab;
Motavizumab) vía im

PREVENCION

Lavado de manos

Aislamiento de los pacientes

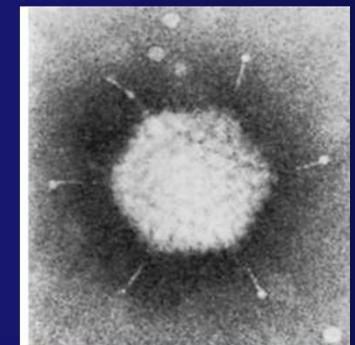
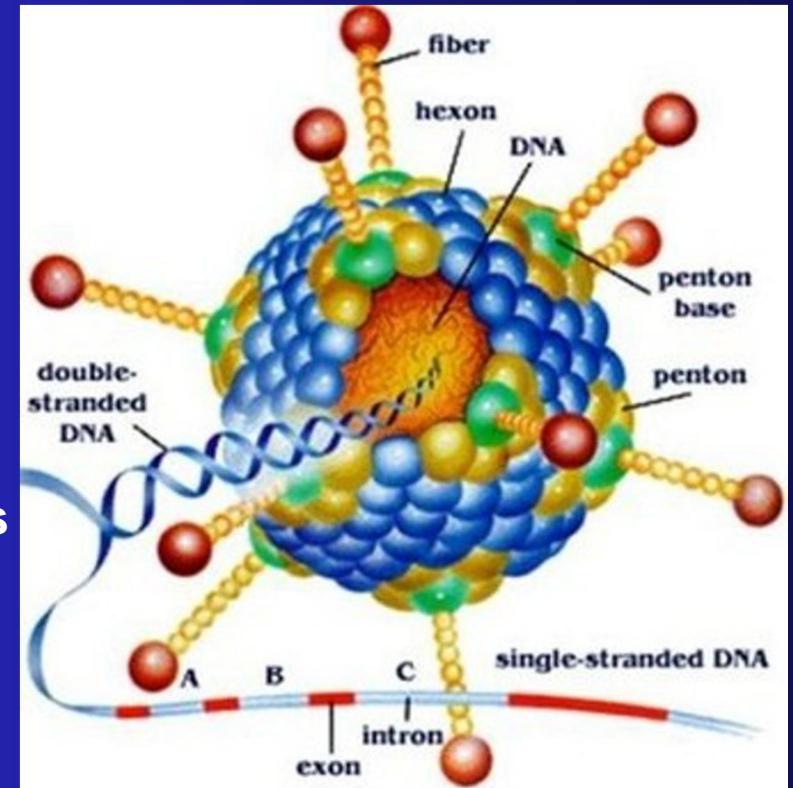
Lactancia prolongada

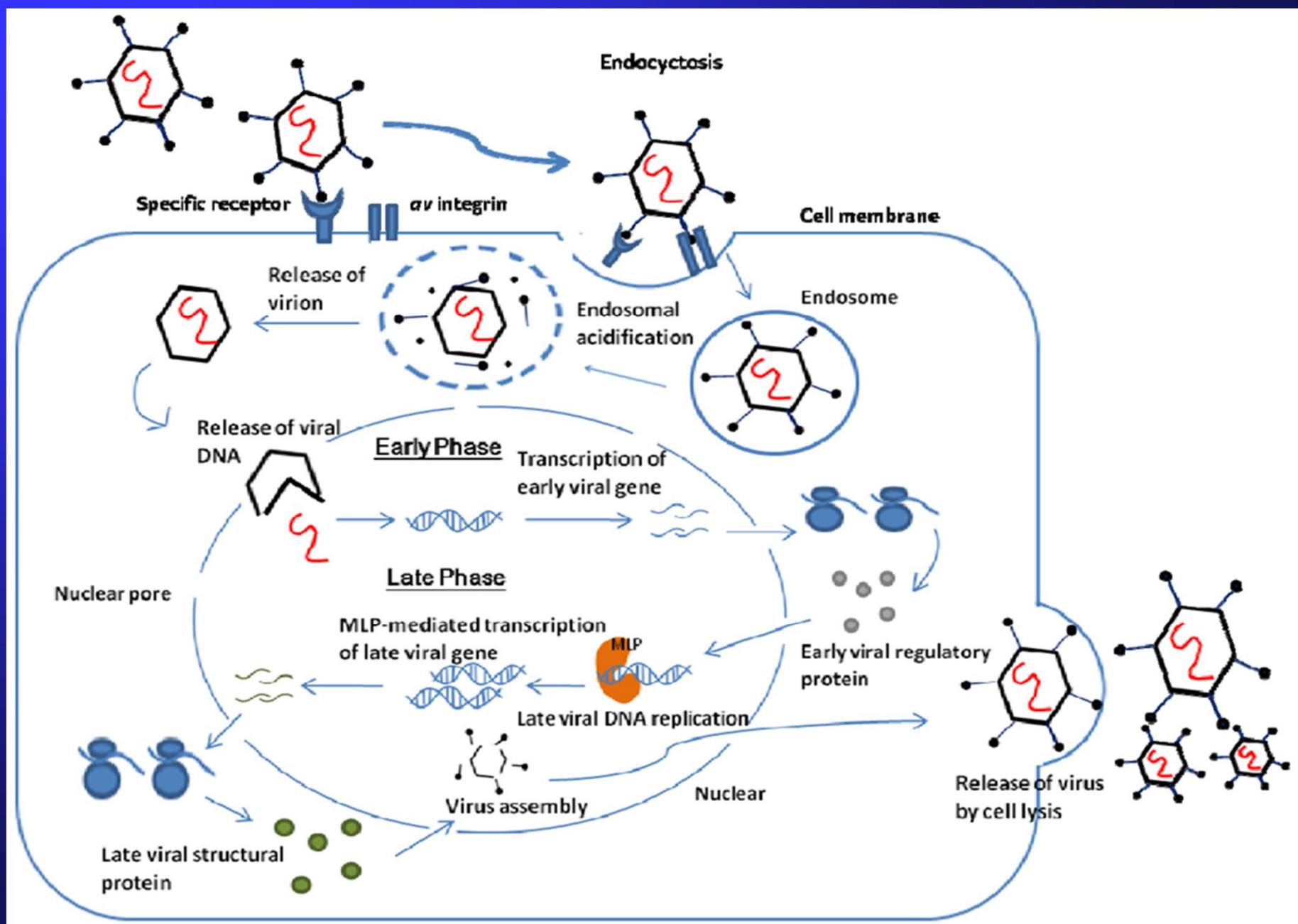
Anticuerpos monoclonales

**NO EXISTE UNA VACUNA EFECTIVA PARA RSV, hay
actualmente diferentes estrategias en ensayos clínicos**

Familia Adenoviridae

- Virus a ADN dc lineal, desnudos
- Nucleocápside icosaédrica
- 2 géneros: Mastadenovirus y Avian
- Hombre: 7 especies (A-G) con 51 serotipos
- Producen: Infecciones respiratorias oculares nosocomiales gastrointestinales persistentes en tejido linfoide y riñon sistémicas (IC)
- Virus estables a pH ácido, secreciones gástricas y biliares.
- Gran variabilidad antigenica. Respuesta inmune específica de serotipo



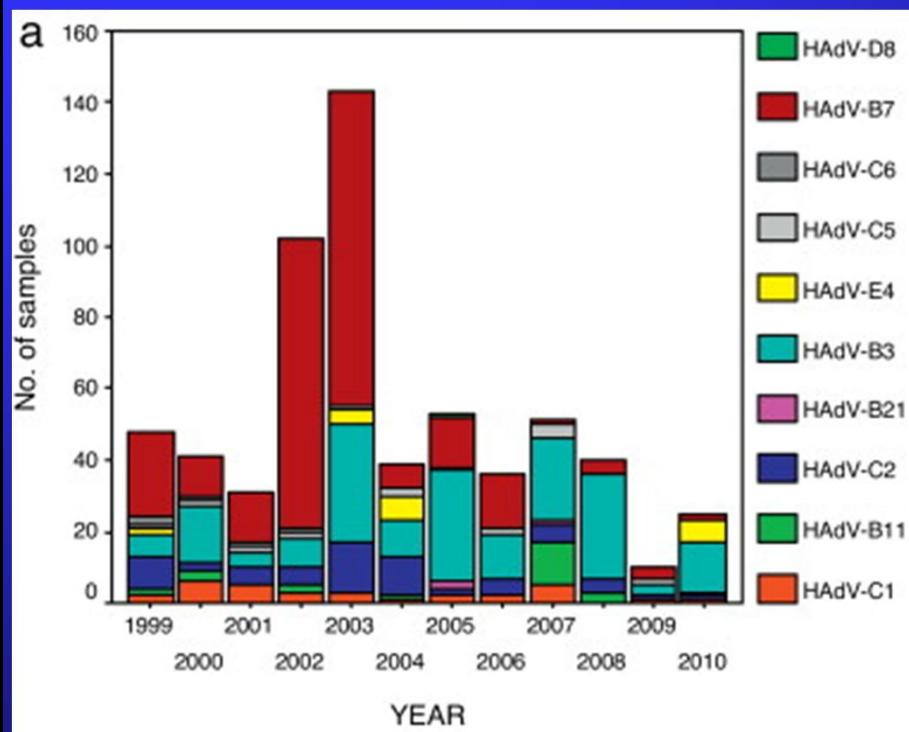


Patogénesis

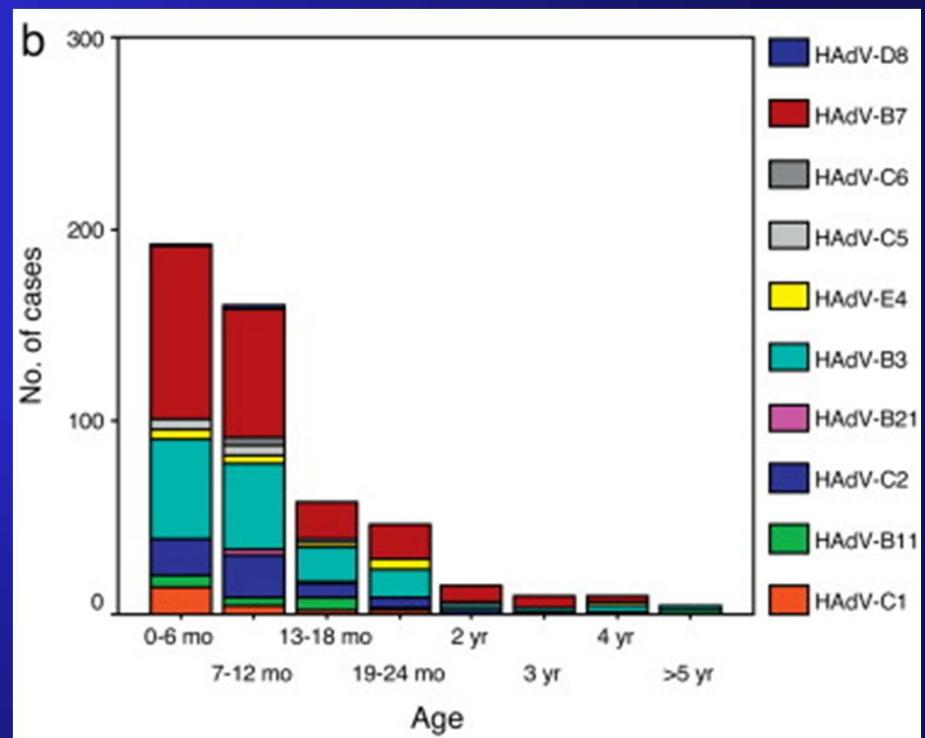
- Mayoría < 5 años, invierno o inicio de primavera
- 5% de las IRA bajas
- Mayoría son autolimitadas pero pueden dar cuadros graves
- Inhalación de gotas o inoculación conjuntival directa
- Fecal-oral

Especies	Infecciones de locación específica
F, G	Gastroenteritis
B, C, E	Neumonía
C	Hepatitis
A, B, D	Meningoencefalitis
B, D	Queratoconjuntivitis

Estudios en Argentina (en infecciones respiratorias en niños)



Predominio de especies
B y C



Mayor número de casos
en edades tempranas

Otros virus respiratorios

- Parainfluenza

- Rinovirus

Nuevos virus respiratorios

- Metapneumovirus

- Bocavirus

- Coronavirus

- Polyomavirus (KU, WI)

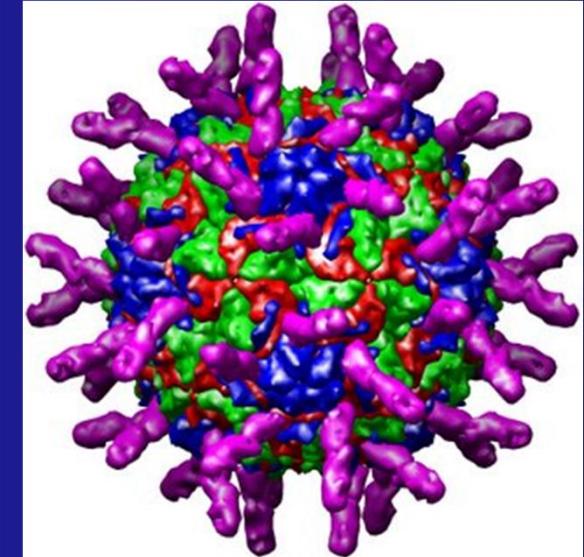
Parainfluenza

Parainfluenza Serotipo	Síndrome más frecuente	Edad
Tipo 1	Crup (laringotraqueítis)	6 meses-6 años
Tipo 2	Crup ,Rinitis, rinofaringitis Bronquitis	6 meses a 6 años
Tipo 3	Crup, rinitis, rinofaringitis Bronquitis, bronquiolitis, neumonía, otitis media	0-6 meses
Tipo 4 A y B	Rinitis, rinofaringitis IRA bajas	0-5 años

Rinovirus

- Familia *Picornaviridae*
- Desnudo, RNA +
- >100 serotipos

- IRA alta: resfrió común en todo grupo etario
- Otitis media en niños, sinusitis en adultos
- IRA baja: **causa de bronquiolitis**



Bronquitis, neumonía
Exacerbaciones de asma (niños)
Exacerbaciones de EPOC (adultos)
Frecuencia de coinfecciones: Alta

Virus Respiratorios en menores de 5 años con IRA (n=347) Buenos Aires.

RVH

VSR

AdV

Flu A

Flu B

PIV

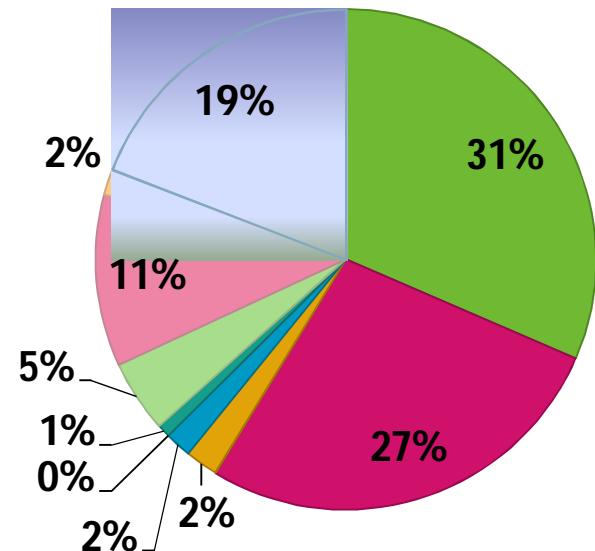
hMPV

RVH+otro

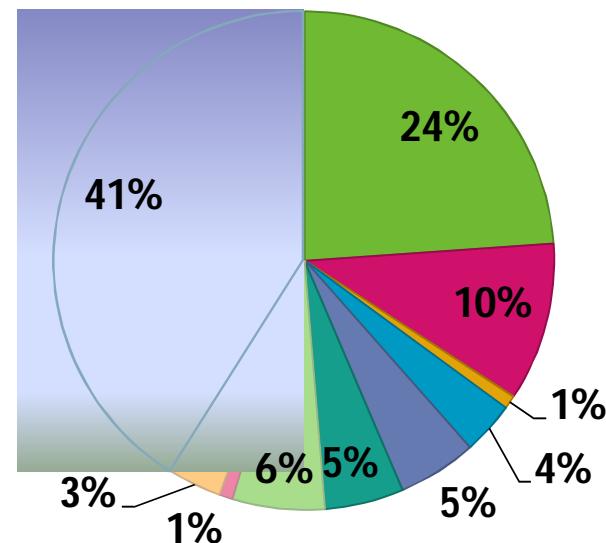
Coinfección

Negativos

Hospitalizados



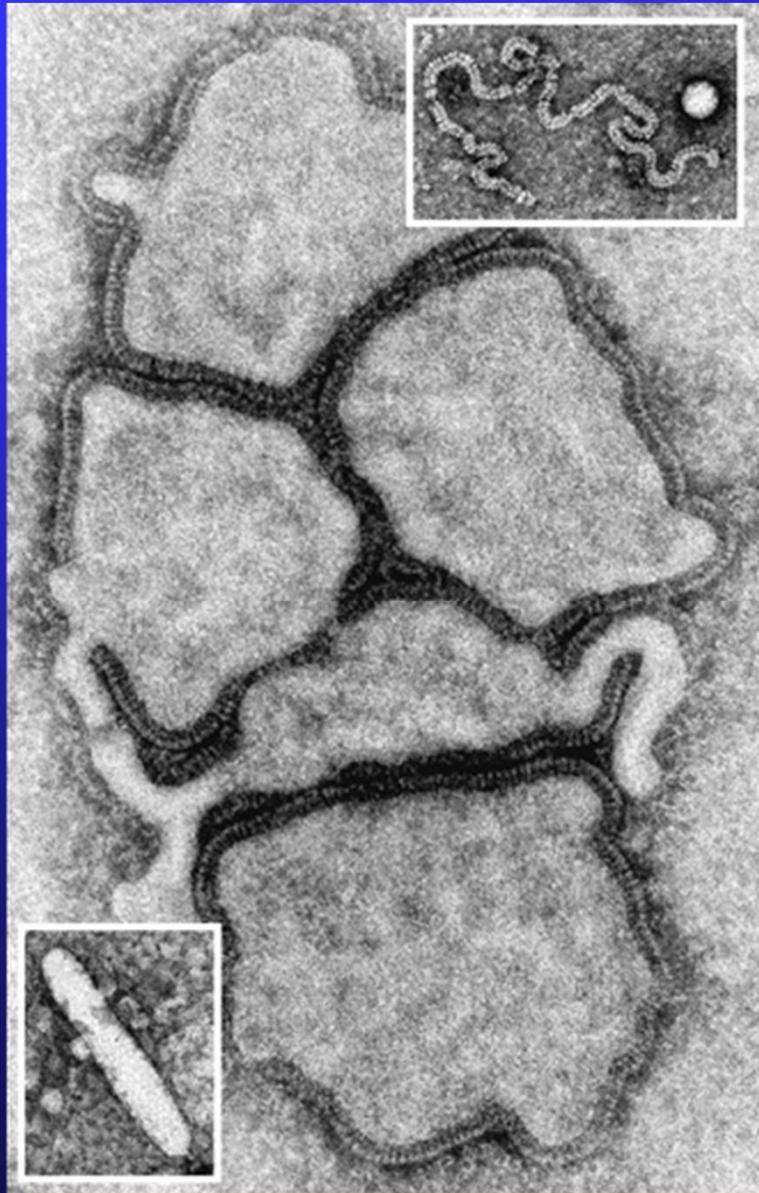
Ambulatorios



- RVH 38%; VSR 28%; hMPV 5.5%;
- VSR y RVH > frecuencia en Hospitalizados vs ambulatorios p<0.05
- Coinfecciones >en hospitalizados 13% vs 5% y RVH con otros virus

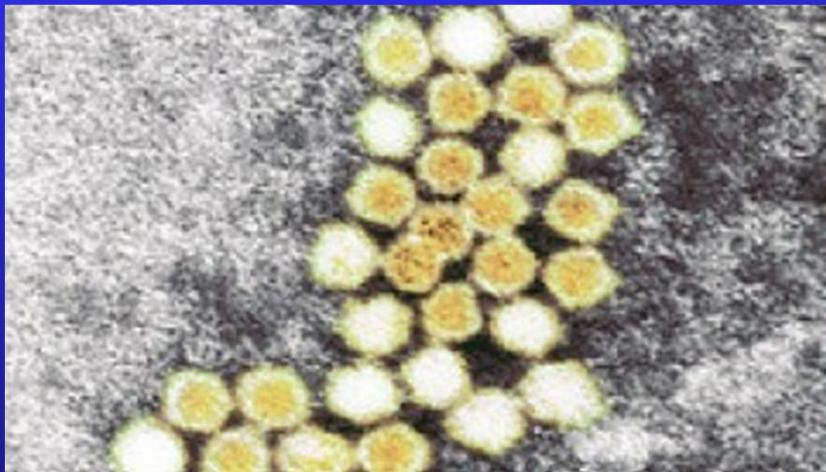
Infección respiratoria aguda viral en niños menores de 5 años. Estudios Epidemiológico en dos centros de Buenos Aires, Argentina. Vidaurreta S et al. Arch.Argent.Pediatr. 2011; 109 (4): 296-304.

Metapneumovirus humano (hMPV)



- *Paramixoviridae*
- Partículas pleomórficas
- Con envoltura, espículas cortas
- 2º lugar como productor de infección respiratoria aguda en niños
- Cuadro ~RSV
- Se asocia a coinfecciones

Bocavirus humano (HBoV)



- **Familia. Parvoviridae**
- **Virus desnudo, DNA simple**
- **Afecta a todos los grupos etarios, especialmente en niños**
- **Neumonía, bronquitis, bronquiolitis y IRA alta**
- **Alta frecuencia de coinfecciones con otros virus**

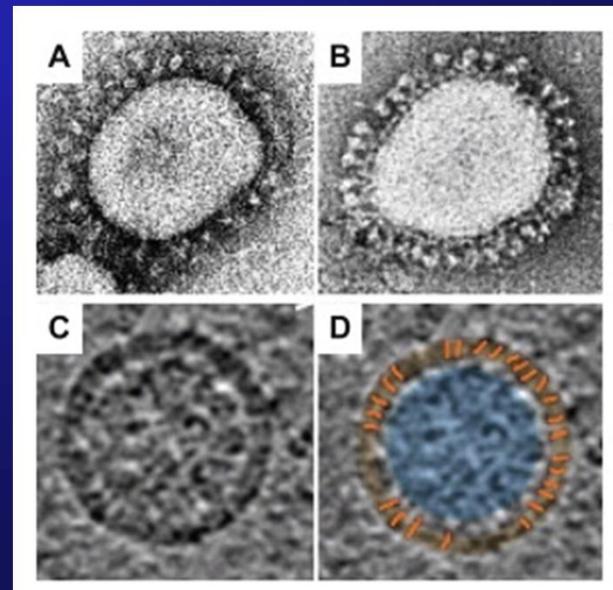
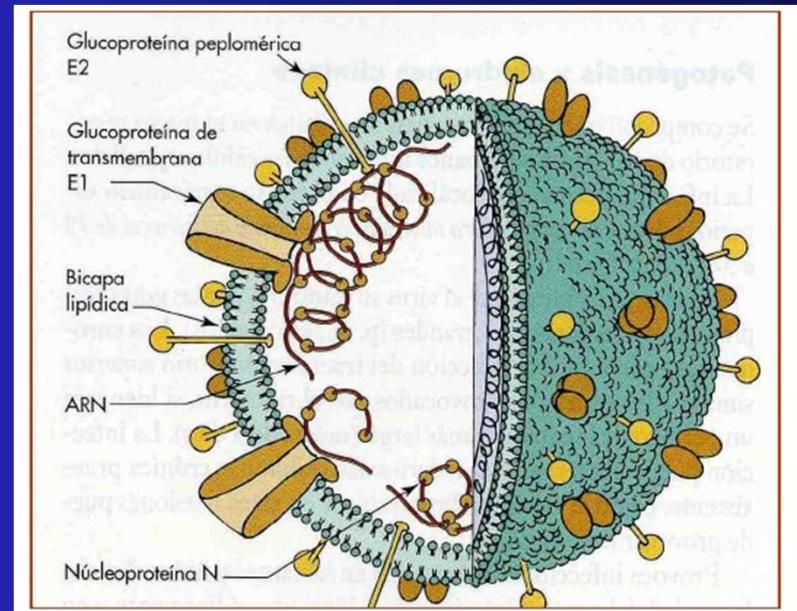
Coronavirus Humanos

Familia Coronaviridae

Sub-Familia Coronavirinae

Virus Envueltos RNA +

- hCoV 229-E
- hCoV OC43
- hCoV SARS
- hCoV NL63
- hCoV HKU1
- hCoV MERS



DIAGNOSTICO ETIOLOGICO



¿Normalmente, qué virus se investigan en un "panel respiratorio" ?

- Virus sincicial respiratorio
- Adenovirus
- Influenza A
- Influenza B
- Parainfluenza

¿Por qué es importante para los virus respiratorios?

- Evitar el uso indiscriminado de antibióticos
- Aislamiento de los pacientes infectados para limitar las infecciones intrahospitalarias.
- En casos de influenza con pocos días de evolución y en pacientes seleccionados, administrar antivirales específicos.
- Conocer la situación epidemiológica en una comunidad y las cepas circulantes, lo que tiene importancia en relación a futuras vacunas.

¿Cuándo amerita hacer Diagnóstico?

Cuadros GRAVES de:

- 1. Enfermedad tipo Influenza (ETI)**
- 2. Bronquiolitis en menores de 2 años**
- 3. Neumonía**

**Pacientes que requieren
internación**

Diagnóstico de virus respiratorios

DIRECTOS

Métodos rápidos:

- * IF (indirecta o directa)
- * ELISA

Métodos nuevos:

PCR (multiplex)

Métodos clásicos: aislamiento en cultivos celulares
(gold standard) + identificación por IFI

INDIRECTOS

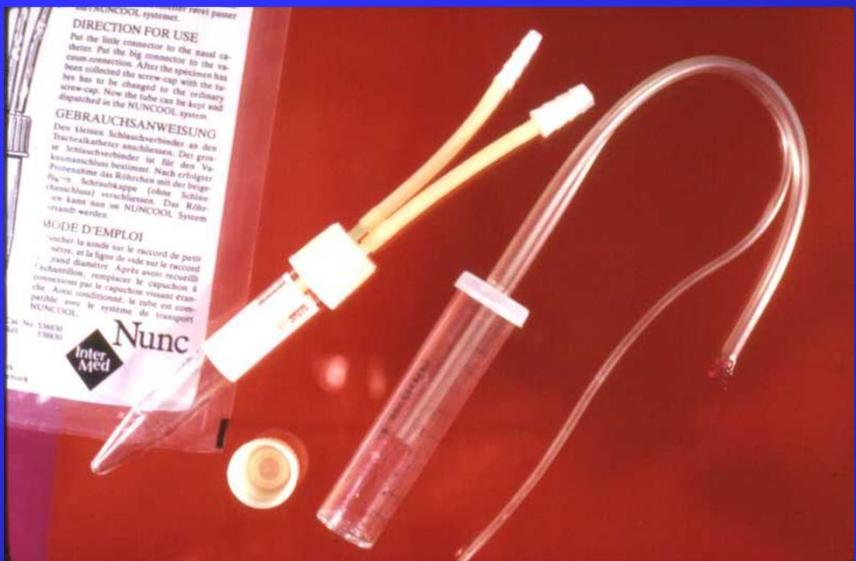
IgM específica
Conversión serológica

Muestras aptas para Dx directo

¿Cuándo? Dentro de los 3 días del inicio del cuadro

1. Aspirado nasofaríngeo (ANF)
2. Hisopado nasofaríngeo
3. Hisopado nasal combinado con hisopado faríngeo
4. Otras: aspirado traqueal, lavado bronquial, lavado broncoalveolar (BAL), líquido de derrame pleural, o biopsias de pulmón.

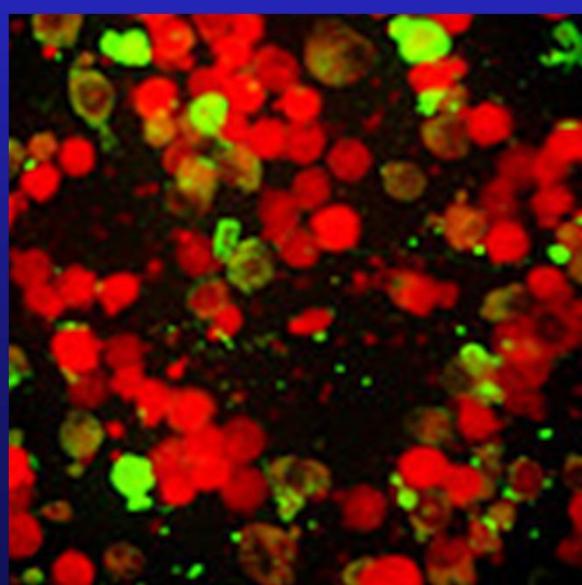
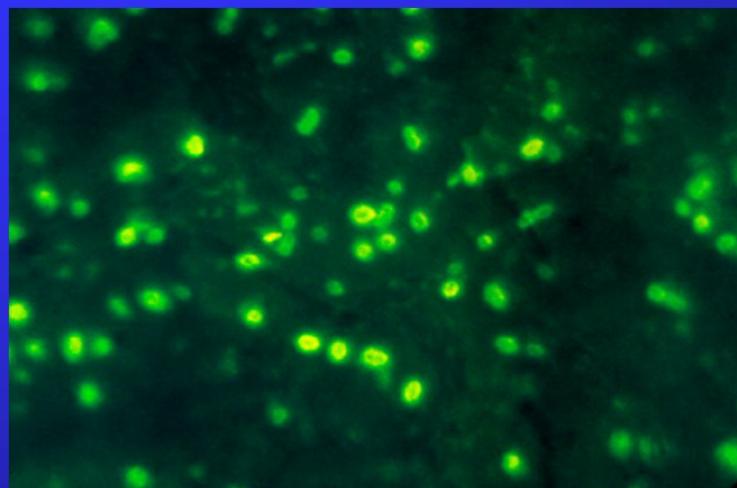
Utilizar medios de transporte adecuados y cuidar las condiciones de conservación hasta el laboratorio



ASPIRADO NASOFARINGEO (ANF)



Detección directa de antígeno: IFI en ANF

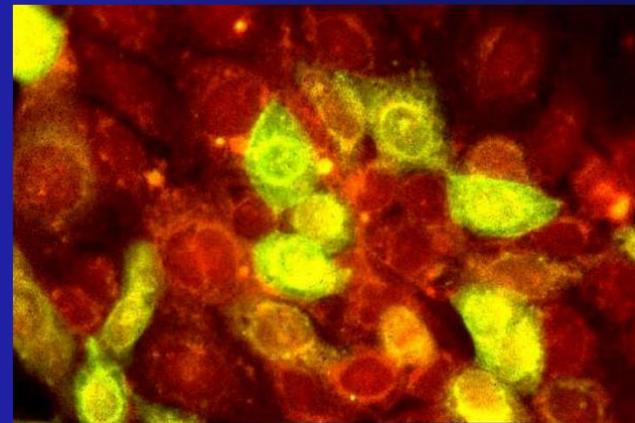
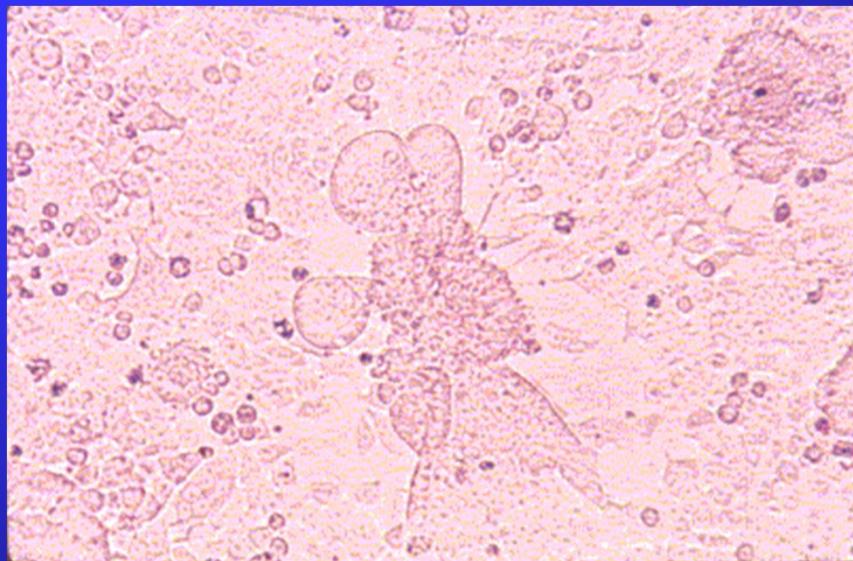


Ventajas: Rápida
< costo

Desventaja:
Personal entrenado
Adecuado Nº células
Requiere microscopio IF

CULTIVO DE VIRUS: evidencia infectividad

ACP de RSV



Identificación por IFI

Uso de varias líneas celulares: MDCK, LLC-MK2, A549, FH

ACP: 7-15 días → improcedente en algunas situaciones de urgencia diagnóstica

Cultivo Clásico: Tubos

Rápido: “shell vial”

Uso de cultivo mixto

Detección rápida de antígeno



The Leaders in Rapid Respiratory Testing
BD Directigen™ EZ RSV

Over ninety percent of laboratories rely on BD for their rapid RSV testing needs.¹ New BD Directigen™ EZ RSV now makes rapid RSV testing easier than you ever thought it could be.

"Of all the rapid tests we have evaluated, this was the simplest to perform and read."

— Dr. Wallace Greene, Hershey Medical Center

One Device

- Innovative lateral flow technology
- Dried reagents are already applied to the testing strip
- Device does all the work

One Reagent

- One extraction reagent
- No diluting mucoid specimens
- No color or wash reagent additions

One Result

- Answer within 15 minutes, truly STAT results
- Flexibility in reading times
- Fewer uninterpretable results, fewer repeats
- Clear-cut results: easy-to-read double line

Inmunocromatografía

Rápidos (20-30 min)
Menor Sensibilidad que IF
No evalúa calidad de muestra

Sólo para períodos epidémicos!

Sensibilidad: 60-70%
Especificidad: 80-90%

Depende de edad pacientes, tipo muestra, subtipo virus

Diagnóstico molecular: pesquisa de material genómico

- PCR
- RT-PCR } individual
- PCR en **tiempo real** (permite cuantificar)
- Multiplex “*in house*” o comerciales.

Ventajas: ej: estudiar virus no cultivables o sin disponibilidad de monoclonales (Rinovirus, Entero, Corona virus y los nuevos virus)

Desventajas: ej: Costo elevado, equipos comerciales no aprobados para diagnóstico

Conclusiones

- Las infecciones virales respiratorias tiene alta prevalencia en poblaciones susceptibles.
 - RSV en menores de 2 años
 - VI en adultos mayores
- En la patogénesis predominan los mecanismos de daño indirecto.
- Lavado de manos. La profilaxis activa para virus influenza; profilaxis pasiva para RSV (cuando lo amerite).
- El diagnóstico virológico es directo y se requiere ante cuadros graves.

Bibliografía

1. Abordaje Integral de las Infecciones Respiratorias Agudas. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. 2da Edición (2014).
2. Lion T. Adenovirus Infections in Immunocompetent and Immunocompromised Patients. *Clin.Microbiol.Rev.* (2014) 27 (3), 441–462
3. Jain S. Epidemiology of Viral Pneumonia. *Clin Chest Med.* (2016)
4. Newton AH et al. The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology. *Semin Immunopathol* (2016) 38:471–482
5. Piedimonte, G and Perez MK. Respiratory Syncytial Virus Infection and Bronchiolitis. *Pediatrics in Review* (2014) 35 (12).519.
6. Walsh EE. Respiratory Syncytial Virus Infection An Illness for All Ages. *Clin Chest Med -* (2016)
7. Shah RD, Wunderink RG. Viral Pneumonia and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Clin Chest Med -* (2016)
8. Barrero PR et al. Molecular typing of adenoviruses in pediatric respiratory infections in Buenos Aires, Argentina (1999-2010). *J Clin Virol.* (2012);53(2):145-50.
9. Tregoning JS, Schwarze J. Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev.* (2010); 23(1):74-98.