



Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.
Cátedra I

**Infecciones causadas por *Chlamydophila pneumoniae* , *C*
psittaci
Mycoplasma pneumoniae y *Bordetella pertussis***

Dra. Mariana Catalano

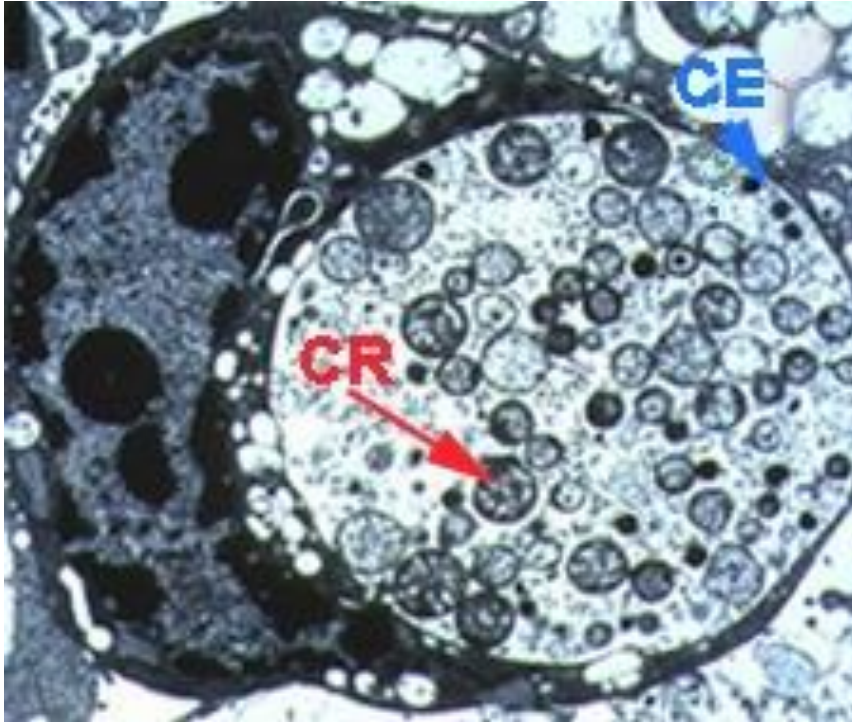
Orden	<i>Chlamydiales</i>
Familia	<i>Chlamydiaceae</i>
Géneros	<i>Chlamydia</i> y <i>Chlamydophila</i>

La familia *Chlamydiaceae* comprende especies cuyas características comunes incluyen:

- 1) son patógenos intracelulares obligadas por carecer de citocromos, por ende no pueden sintetizar ATP ni reoxidar el fosfato de nicotinamida-adenina-dinucleótido (NADPH),
- 2) poseen un ciclo de replicación con dos estadios.

Especies *Chlamydia trachomatis*,
Chlamydophila pneumoniae
Chlamydophila psittaci.

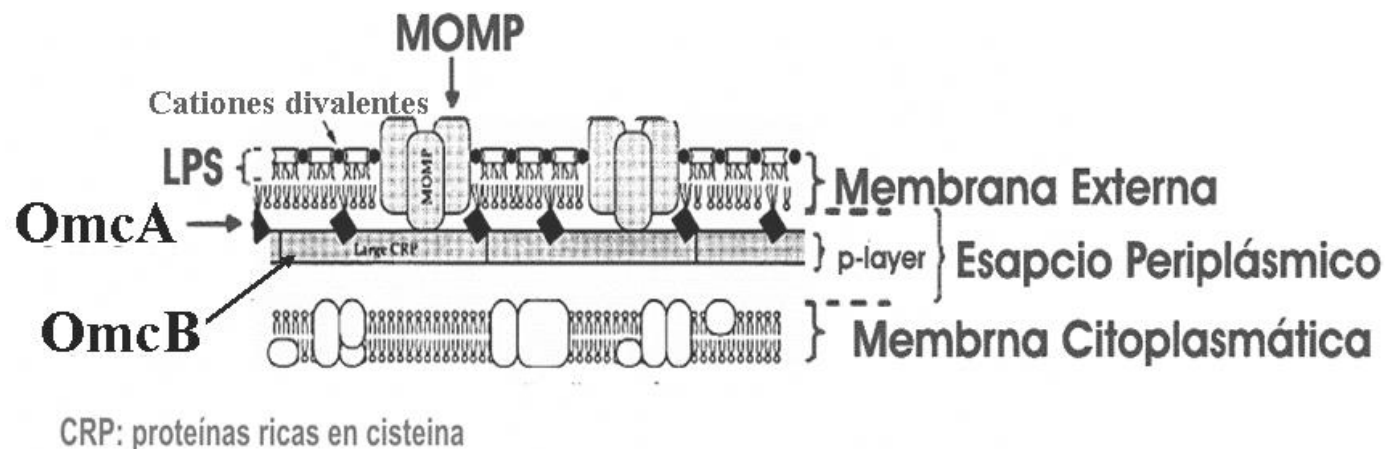
Forma infectante: cuerpo elemental



La forma metabólicamente activa con capacidad de multiplicarse intracelularmente: cuerpo reticular

Unión y entrada. Dependiendo de la especie la infección ocurre en las células epiteliales, endoteliales, del músculo liso y en monocitos o macrófagos

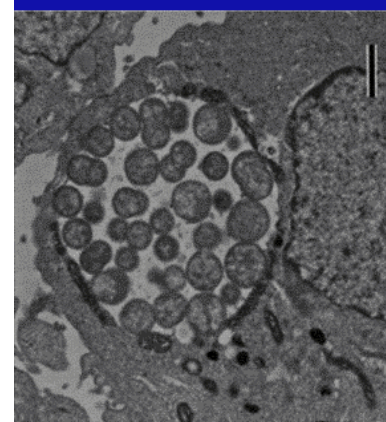
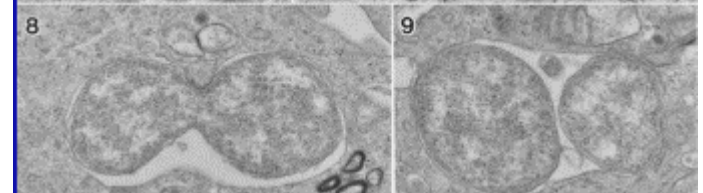
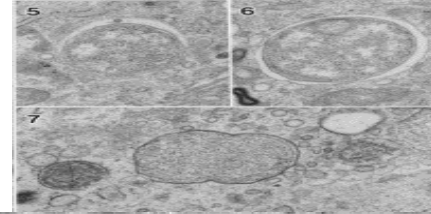
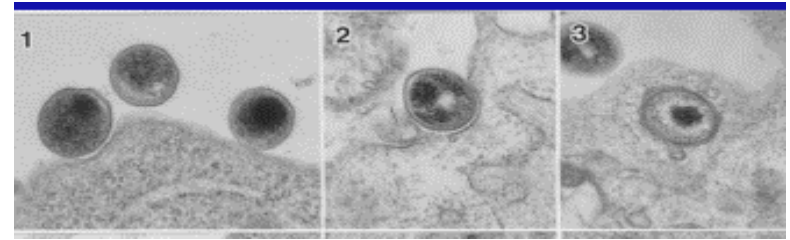
MOMP, *Chlamydia* o *Chlamydophila* unidas a AC, MOMP y OmcB se unen a moléculas de heparina.
El LPS colabora también



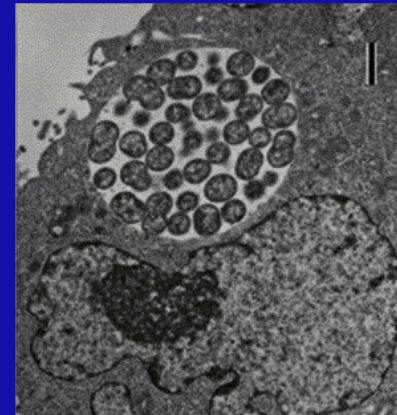
En la célula huésped el CE se reorganiza a CR dentro de la vacuola de inclusión (derivada de la membrana del huésped)

El CR crece y se replica por fisión binaria

Después de un período de progenie en fase exponencial, el CR se comienza a diferenciar en CE con la síntesis de las proteínas tardías incluyendo OmcB y OmcA y dos simil-histonas, Hc1 y Hc2 (compactan el cromosoma).

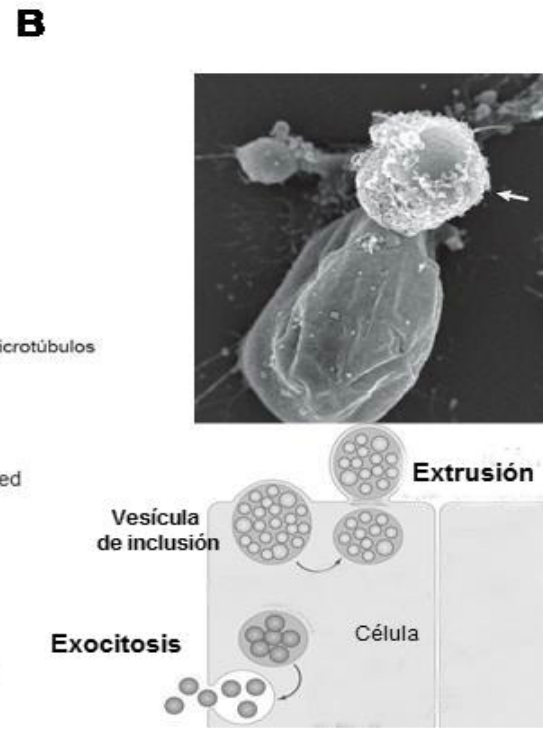
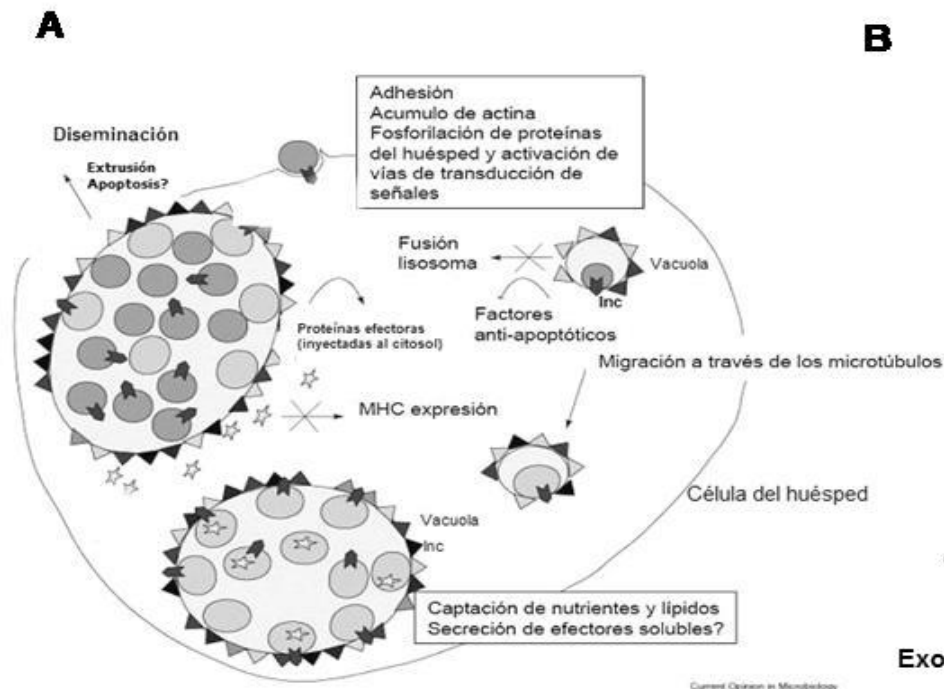


C. psittaci Cal 10



C. pneumoniae

Los CE se liberan al exterior . La salida de los CE de la célula huésped incluye mecanismos que evitan la necrosis celular para evadir la estimulación del sistema inmune. La exocitosis de los CE sería semejante a la utilizada por la célula eucariótica para liberar moléculas situadas en vesículas. La extrusión comprende la “compresión” de una parte de vacuola de inclusión dentro de un compartimento de la membrana plasmática dejando a la célula del huésped intacta aunque con residuos de inclusión **El ciclo completo se extiende de 48 a 72 hs.**



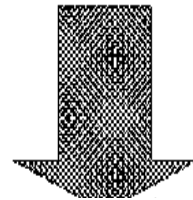
Chlamydia trachomatis

De acuerdo a características fisiológicas se diferencian 3 biovariedades:

**biovar pneumonitis en ratón,
biovar linfogranuloma venereo y
bio var tracoma**

**Las dos últimas único
Reservorio: Hombre**

**Considerando los diferentes epitopes de
la proteína MOMP anticuerpos
monoclonales diferencian epitopes
especies específicas, subespecies, y
serovariedades**



20 serovariedades

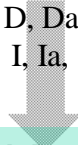


Chlamydia trachomatis

Las biovariedades Linfogranuloma Venéreo y Tracoma se diferencian por el tropismo de tejidos

Bio *C. trachomatis* LGV

D, Da, E, F, G, Ga, H,
I, Ia, J, Ja K



Invade tejido linfático
4 serovar: L1, L2, L2a, L3

Bio *C. trachomatis* tracoma



Invade células epiteliales de la mucosa

16 serovar: A,B, Ba, C
D-K, Da, Ga, Ia, Ja

***C. trachomatis* L1-L3 : Linfogranuloma Venéreo.**

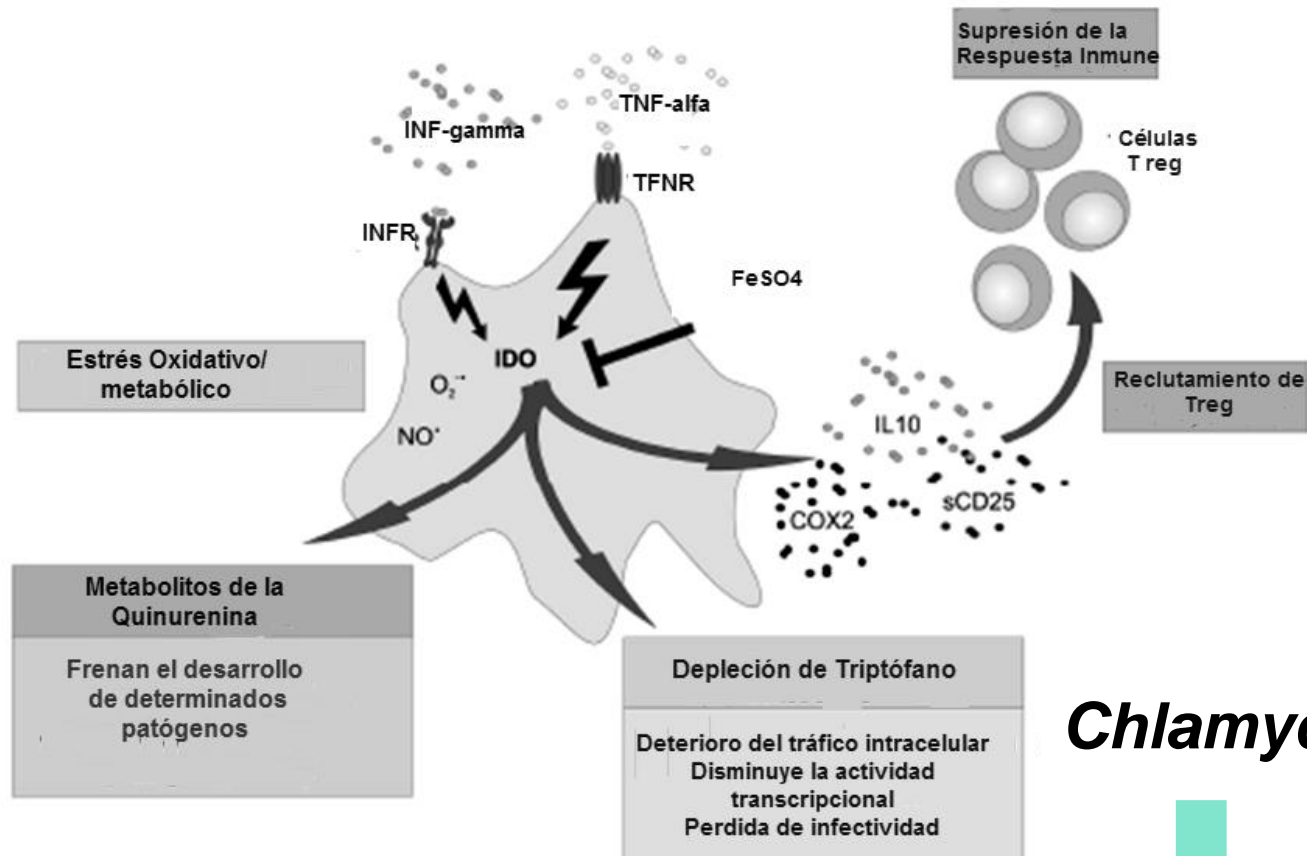
***C. trachomatis* D- K: infecciones genitales, conjuntivitis e infecciones respiratorias en neonatos.**

***C. trachomatis* A-C: Tracoma (endémico).**

TEXTO ADJUNTO AL TEORICO

Persistencia de la Familia *Chlamydaceae*

En las células infectadas la acción del INF γ es mediada por la inducción de la IDO (indolamina 2,3-dioxigenasa), de la óxido nítrico sintetasa (iNOS) y por la regulación decreciente de los receptores de transferrina. La IDO cumple un papel importante en el desarrollo de infecciones crónicas o persistentes.



Chlamydaceae



IDO produce modificaciones en las vías metabólicas de los CR de manera que se mantienen viables pero no se multiplican, es decir induce su persistencia.

Chlamydophila pneumoniae

Neumonía y bronquitis

Implicada en sinusitis, faringitis y en

Enfermedades crónicas: asma intrínseca, la arteriosclerosis, la sarcoidosis y la enfermedad de Alzheimer.

Chlamydia pneumoniae

La entrada al hombre es mediada por gotitas respiratorias e infecta la célula epitelial columnar o de transición. Inicialmente lo hace en las células respiratorias de las vías altas y se puede extender a las bajas. El estado de portación es bajo (5% de los casos).

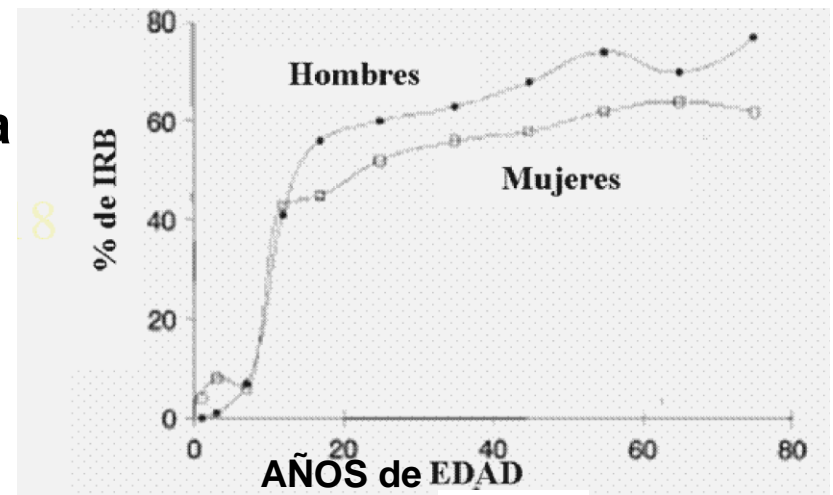
La reinfección es frecuente a lo largo de la vida.

La bacteria es capaz de originar infecciones asintomáticas principalmente en niños.

Causa el 6 al 15% de neumonías adquiridas en la comunidad.

Aunque la infección puede ocurrir en todas las edades generalmente a partir de los 5 años de edad, los grupos etáreos más afectados son 18-34 y de 65-79 años

Grupos Etáreos con mayor Incidencia
18-34 años
65-79 años



Chlamydia pneumoniae

La mayoría de las neumonías causadas por *C. pneumoniae* son leves, pueden ser autolimitadas y difíciles de diferenciar clínicamente de *M. pneumoniae*.

RX de tórax muestra infiltrados intersticiales

Pero la consolidación lobular y derrame pleural también puede ocurrir

***C. pneumoniae* ha sido aislada de empiemas pulmonares y puede ocasionar falla respiratoria**

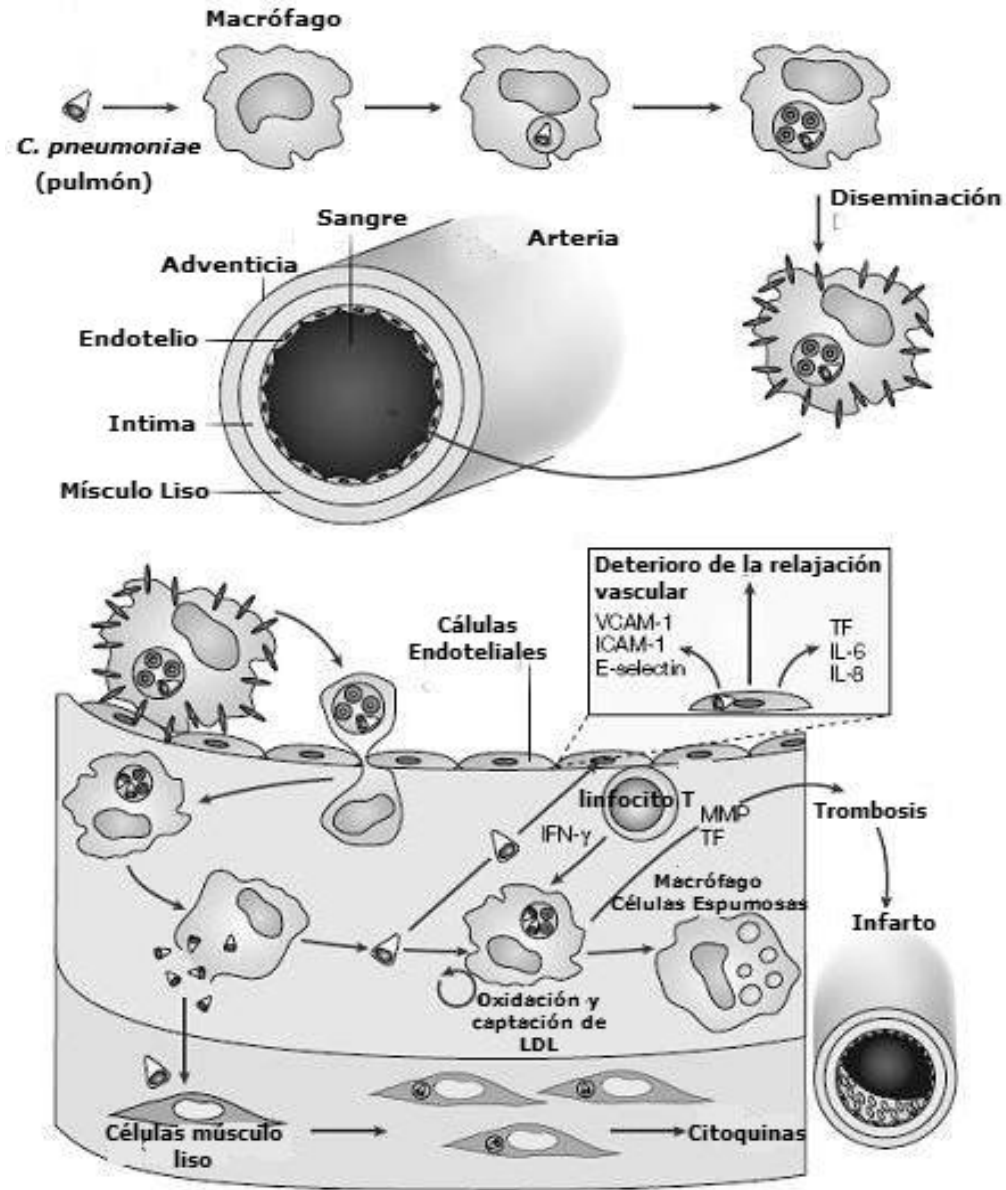
Chlamydophila pneumoniae

En niños mayores de 5 años, la infección ha sido asociada a la exacerbación del asma.

En cuanto a las infecciones respiratorias crónicas puede causar la colonización persistente de las vías respiratorias bajas en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), así como las exacerbaciones.

Chlamydophila pneumoniae

Factor de riesgo de la injuria vascular en la arterioesclerosis. Los CE son endocitados por los macrófagos alveolares en donde se diferencian a CR y se multiplican. La presencia de las vacuolas de inclusión en los monocitos infectados **incrementa la expresión de ligandos de adhesión que facilita su adherencia a los endotelios arteriales**. Los macrófagos adheridos migran a la túnica íntima de los vasos donde pueden infectar a los macrófagos residentes **los cuales comienzan a oxidar y captar LDL tomando el típico aspecto de las células espumosas**. Aparentemente el LPS bacteriano aumenta la entrada del colesterol y disminuye su eflujo, mientras que la proteína *cla*-Hsp60 induce la oxidación en los monocitos y macrófagos. La liberación de citoquinas (por la infección de las células del músculo liso y las endoteliales) y las metaloproteasas (principalmente secretadas por los macrófagos) desestabilizan la placa arterioesclerótica promoviendo la formación de trombos con el riesgo del infarto del miocardio.



Indirecto

En una infección primaria los anticuerpos de tipo IgM aparecen de 2 a 3 semanas tras la infección, mientras que del tipo IgG requieren de 6 a 8 semanas para ser detectados.

IFI (método de referencia, micro inmuno fluorescencia indirecta contra antígeno MOMP)

IgM >16

IgG seroconversión (aumento 4 veces el título en muestras con 3 semanas de intervalo)

En reinfecciones, IgM puede estar ausente o con niveles bajos, IgG aparecer a las dos semanas postinfección.

En adultos un sólo título de IgG no es válido para el diagnóstico, ya que puede persistir elevado por las repetidas reinfecciones.

Otros métodos

ELISA (con LPS recombinante) IgM, IgG.

immunochromatographic para IgM.

Directo

Cultivo

Métodos Moleculares: Amplificación de ADN específico (INEI-ANLIS Dr Carlos G Malbrán)

Se debe considerar que luego de una infección puede haber portación en nuestras respiratorias hasta 8 semanas.

Chlamydophila psittaci

El hombre generalmente adquiere la infección de pájaros sintomáticos o asintomáticos (loros, palomas, cotorras).

Se adquiere por inhalación de polvo de la jaula contaminado con heces y orina, o del polvo que se despiden del plumaje. También puede producirse por picaduras por los pájaros infectados.

Infección zoonótica



El contagio inter-humano es posible aunque muy poco frecuente.

De acuerdo al Ministerio de Salud: Los contactos de la persona enferma (familiares o compañeros de trabajo) deben ser controlados para identificar la aparición de síntomas en forma precoz. -

<http://www.msal.gob.ar/index.php/component/content/article/48/190-psitacosis#sthash.Jo1MrhC7.dpuf>

Chlamydophila psittaci

Ingreso por vía aérea, pasa a sangre



Infecta células del sistema mononuclear



Vía hematógena se disemina a pulmón y otros órganos

Tropismo por alveolos pulmonares:

✓ proliferación y descamación de los neumocitos alveolares

Forma asintomática o leve, cuadro pseudo-gripal

Forma de neumonía grave : comienzo insidioso o súbito, fiebre alta y escalofríos. Tos seca tardía.

SNC : meningitis a líquido claro

Afecta a personas entre 30 a 60 años y es poco frecuente en niños

Chlamydophila psittaci

DIAGNOSTICO SEROLOGICO

IFI en el suero.

CASO CONFIRMADO: epidemiología, clínica aumento de 4 veces o más el título de IgG, o un título de IgM 1:16.

CASO PROBABLE: clínica, epidemiología de contacto con caso confirmado o un título de IgG 1:32 en muestra aislada.

Los laboratorios de referencia realizan Nested PCR en muestras de sangre e hisopado de fauces. La reacción consiste en amplificar el gen *momp1* y luego realizar una nueva PCR utilizando cebadores que amplifican una región del gen específica para *C. psittaci*, o directamente secuencian todo el gen.

El diagnóstico de psitacosis debe incluirse dentro de las neumonías adquiridas en la comunidad

De acuerdo a las leyes vigentes en Argentina, la aparición de un caso de psitacosis debe ser notificado de inmediato a la autoridad sanitaria y existe vigilancia tanto en humanos como animales, comunicando los períodos en los cuales se observa un mayor número de casos a los esperados.

Mycoplasma y Ureaplasma

La clase Mollicutes está formada por las bacterias más pequeñas de vida libre. En esta clase encontramos la familia *Mycoplasmataceae* formada por 8 géneros de los cuales *Mycoplasma* y *Ureaplasma* poseen especies que colonizan y/o causan patologías en el hombre).

El género *Mycoplasma* cuenta con más de 190 especies, de las cuales 12 son las más frecuentemente encontradas dentro de la flora normal del hombre y 2 causan patologías: *M. pneumoniae* y *M. genitalium*. *Mycoplasma hominis* se comporta como patógeno oportunista.

En el género *Ureaplasma*, 2 de sus 6 especies forman parte de la flora genitourinaria y también se comportan como patógenos oportunistas: *U. urealyticum* y *U. parvum*.

Mycoplasma y Ureaplasma

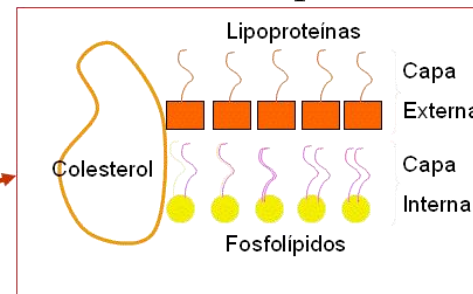
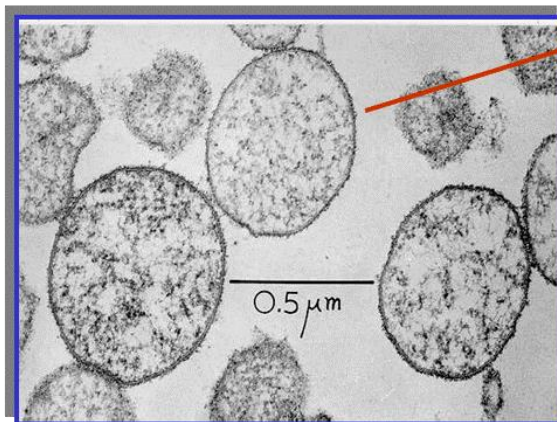
Bacterias extra-celulares

Carecen de pared celular,

Membrana celular característica que contiene esteroides (colesterol) esenciales para las funciones de la misma

Son capaces de pasar por filtros que retienen la mayoría de las otras especies bacterianas.

Membrana citoplasmática



Genero/especie	Sitio de Colonización		Patogenicidad
	Orofaringe	Tracto Genitourinario	
<i>Mycoplasma salivarium</i>	+	-	-
<i>M. amphoriforme</i>	+	-	-
<i>M. orale</i>	+	-	-
<i>M. buccale</i>	+	-	-
<i>M. faucim</i>	+	-	-
<i>M. lipophilum</i>	+	-	-
<i>M. pneumoniae</i>	+	-	+
<i>M. hominis</i>	+	+	-/+
<i>M. genitalium</i>	? ^a	+	+
<i>M. fermentans</i>	+	+	+
<i>M. primum</i>	-	+	-
<i>M. spermatophilum</i>	-	+	-
<i>M. pirum</i>	? ^b	? ^b	?
<i>M. penetrans</i>	-	+	? ^c
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-	+	-/+
<i>U. parvum</i>	-	+	-/+

Estructura de huso

Está formada por una
Red de proteínas que interaccionan
entre sí y se pueden clasificar en la
Adhesina propiamente dicha, y
proteínas accesorias



Organella
de Adherencia
o Tip

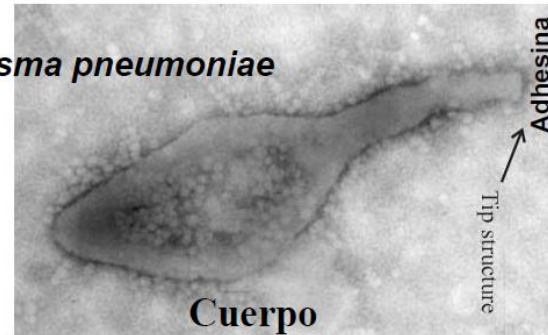
Mycoplasma pneumoniae

Cola

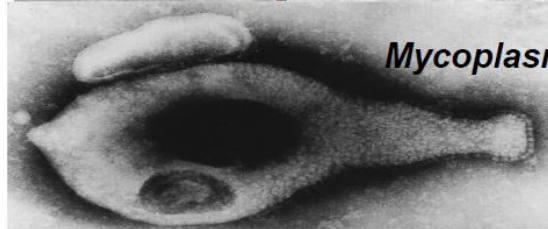
Cuerpo

Adhesina

Tip structure



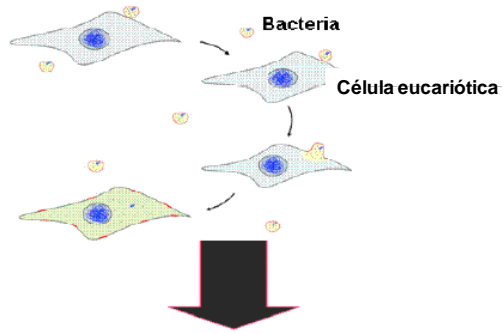
Mycoplasma genitalium



En la foto, se removi6 la membrana
citoplasmatica y el citosol y se
observa el andamiaje o red del
citoesqueleto.

Daño producido por *Mycoplasma*, *Ureaplasma*

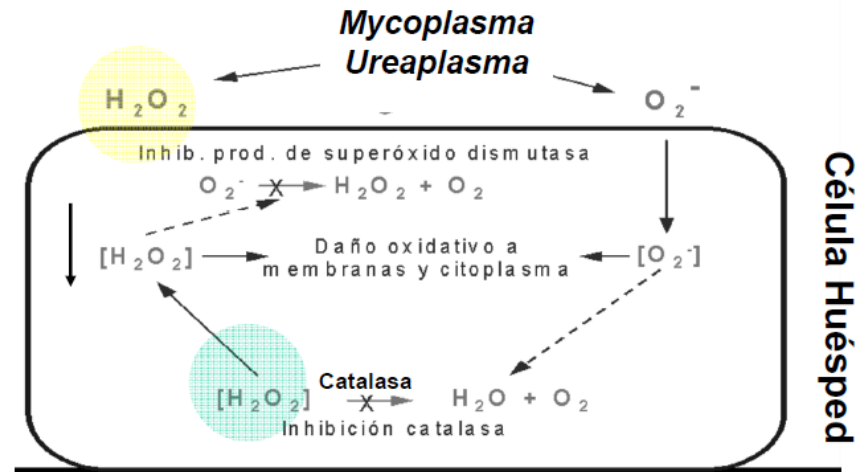
Fusión de membranas bacteria-célula del huésped.



produce competición o privación de nutrientes o
precursores biosintéticos interrumpe el
mantenimiento y función de la célula del huésped.

Liberación de nucleasas, fosfatasa, etc. bacterianas a la
célula del huésped

Daño Oxidativo



El anión superóxido producido por *Mycoplasma* o *Ureaplasma* inhibe la catalasa de la célula huésped reduciendo así la acción de ésta sobre el H_2O_2 endógeno y el producido por la bacteria. La bacteria produce H_2O_2 a partir de glicerol que obtiene de la membrana de la célula huésped después de su fusión. La concentración de H_2O_2 inhibe a la superóxido dismutasa celular.

Mycoplasma pneumoniae

Infecciones respiratorias agudas y crónicas

Traqueobronquitis.

Neumonía Adquirida en la comunidad.

Relacionado al Asma.

Otros desordenes extra-pulmonares y autoinmunes.

Su único reservorio es el hombre, se transmite por aerosoles respiratorios.

Mycoplasma pneumoniae

La infección predominante en el grupo etario de **6-19 años** es la **neumonía**.
Es el principal patógeno relacionado con las neumonías en la edad escolar.

A pesar del importante pico en el mencionado grupo etario esta patología se ha descrito hasta en individuos **menores de 60 años**.

Representan del 5-15% de las neumonías adquiridas en la comunidad.

Los síntomas y signos más comunes son:

Tos seca, ausencia de expectoraciones, fiebre no muy alta, dolor de cabeza, malestar general y un recuento de leucocitos relativamente bajo (menos de 10.000/ml), en comparación con las neumonías de la comunidad ocasionada por otros patógenos bacterianos.

La leucopenia y linfopenia también pueden acompañar a la neumonía.

Puede observarse anergia transitoria a la tuberculina en la fase aguda de la infección por *M. pneumoniae*.

Esta observación puede deberse a la depresión de la función linfocitaria.

Mycoplasma pneumoniae

Las manifestaciones extrapulmonares ocurren en el 25% de los pacientes. Las más frecuentes son Encefalitis y el síndrome de parálisis ascendente de Guillain-Barré.

El síndrome de Stevens Johnson se presenta como mucositis/gingivostomatitis y lesiones en la piel (eritema multiforme).

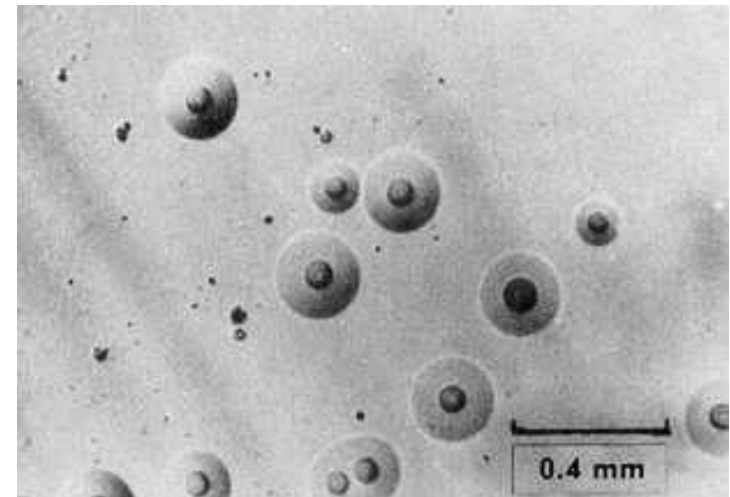
También se describen artritis, miocarditis y arritmia cardíaca.

Mycoplasma pneumoniae

Diagnóstico

Cultivo medios líquidos como sólidos específicos (caldo y el agar SP4) y que contienen compuestos que inhiben la microbita normal). Los medios de cultivo se incuban a 37°C en microaerofilia por un período de tiempo de 4 semanas o más.

Microscopio estereoscópico (objetivo de 20X o 60X)



Muestras: Hisopado de fauces, aspirado nasofaríngeo, esputo, lavados broncoalveolares

Por el tiempo de incubación impide realizar un diagnóstico rápido o en la fase aguda de la enfermedad.

Mycoplasma pneumoniae

Diagnóstico

Nested-PCR, dirigida a amplificar regiones del gen 16S-rARN. Existen equipos comerciales.

Es importante remarcar persistencia de *M. pneumoniae* durante periodos variables de tiempo después de una infección aguda. Dificulta interpretar su detección por PCR.

PCR en tiempo real que permite informar el número de copias presentes. Puede diferenciar infección de portación?

El diagnóstico debe siempre acompañarse de la realización de pruebas serológicas.

Mycoplasma pneumoniae

Diagnóstico Indirecto

Elevación de Título de Anticuerpos Titulos de IgM e IgG ambos por seroconversión

IgM, los títulos detectables se logran después de la semana de la infección pueden persistir semanas, meses, años.

Adultos: Seroconversión de IgM 80% de los casos.

Los adultos pueden no montar una respuesta IgM, presumiblemente debido a re-infecciones (no existe inmunidad completa luego de una infección).

Seroconversión de IgG en el 82% de los casos.

Niños: Seroconversión de IgM 90% de los casos. Especificidad 88%

Determinación de IgA no recomendable para diagnóstico.

(IgA contra *M. pneumoniae* en personas sanas o pacientes con infecciones a otros microorganismos mostraron 22.8% y 53.8% de positividad respectivamente).

Comparando las diferentes técnicas, ELISA muestra mayor sensibilidad.

Fijación de Complemento poco sensible, nada específica (reacción cruzada con micoplasmas, virus influenza, adenovirus entre otros).

Mycoplasma pneumoniae

Diagnóstico

No existe un método “Gold Standard”

Diagnostico recomendado

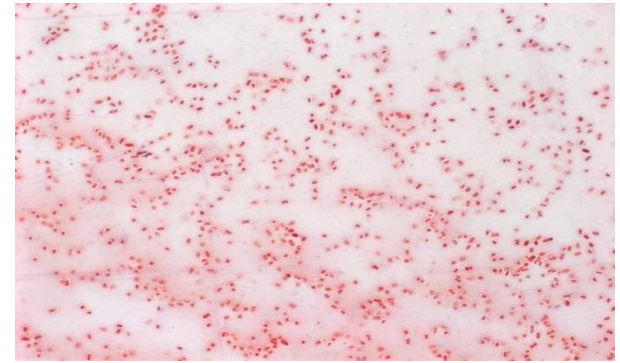
Clínica, epidemiología, PCR o cultivo positivo y seroconversión de inmunoglobulinas.

La presencia de crioaglutininas es inespecífica, puesto que únicamente aparece en un 50% de los pacientes con neumonía por *M. pneumoniae* y porque también se produce en otras infecciones bacterianas y virales.

La presentación radiológica de la neumonía atípica primaria es muy variable. Se observa afectación bilateral en tan sólo un 20% de los pacientes.

Mycoplasma genitalium,
Mycoplasma hominis
Ureaplasma urealyticum

TEXTO ADJUNTO



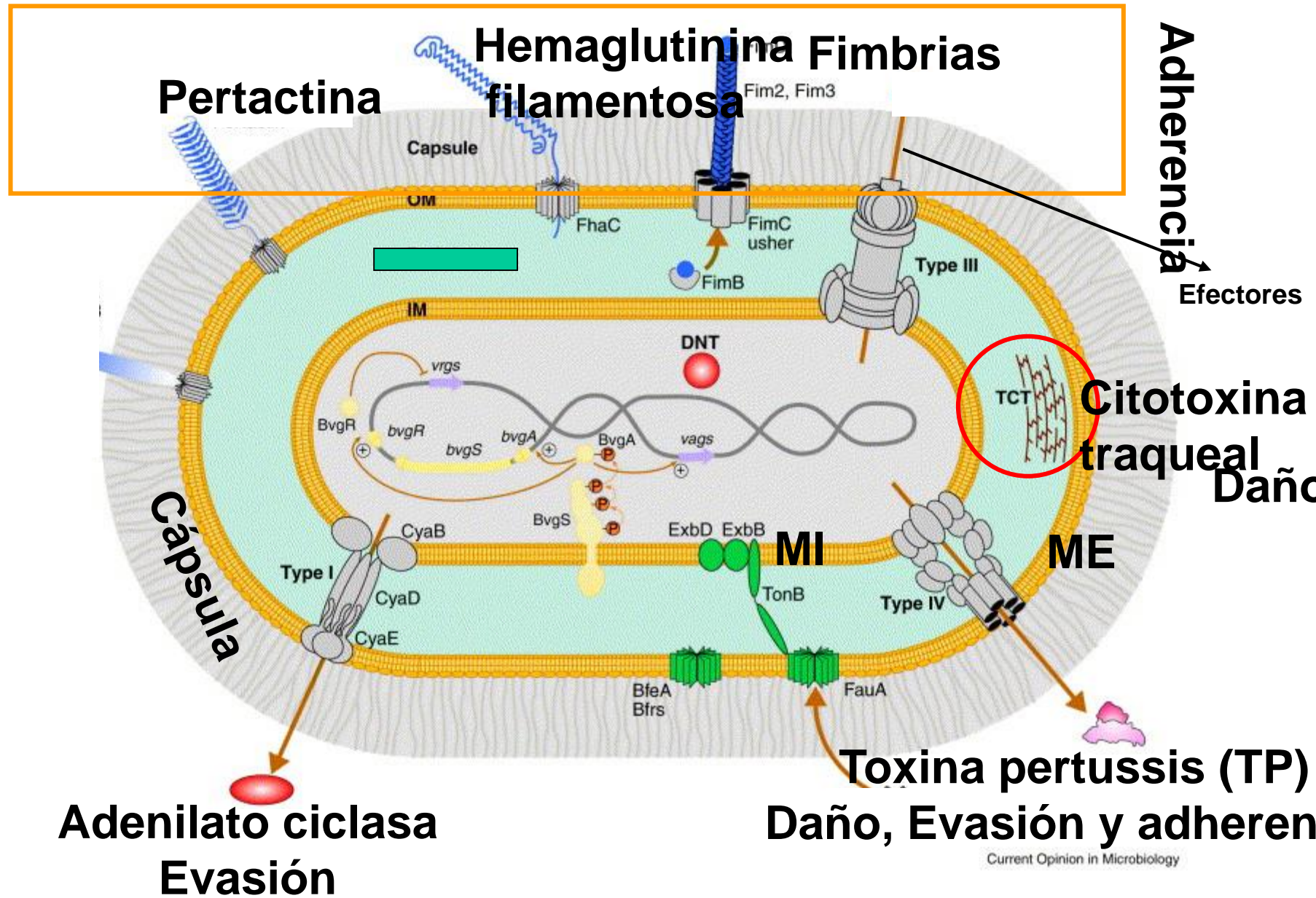
Bordetella pertussis es un cocobacilo gram-negativo aerobio.

Causa en el hombre (único reservorio) una enfermedad respiratoria aguda altamente contagiosa conocida como tos convulsa, pertussis o coqueluche.

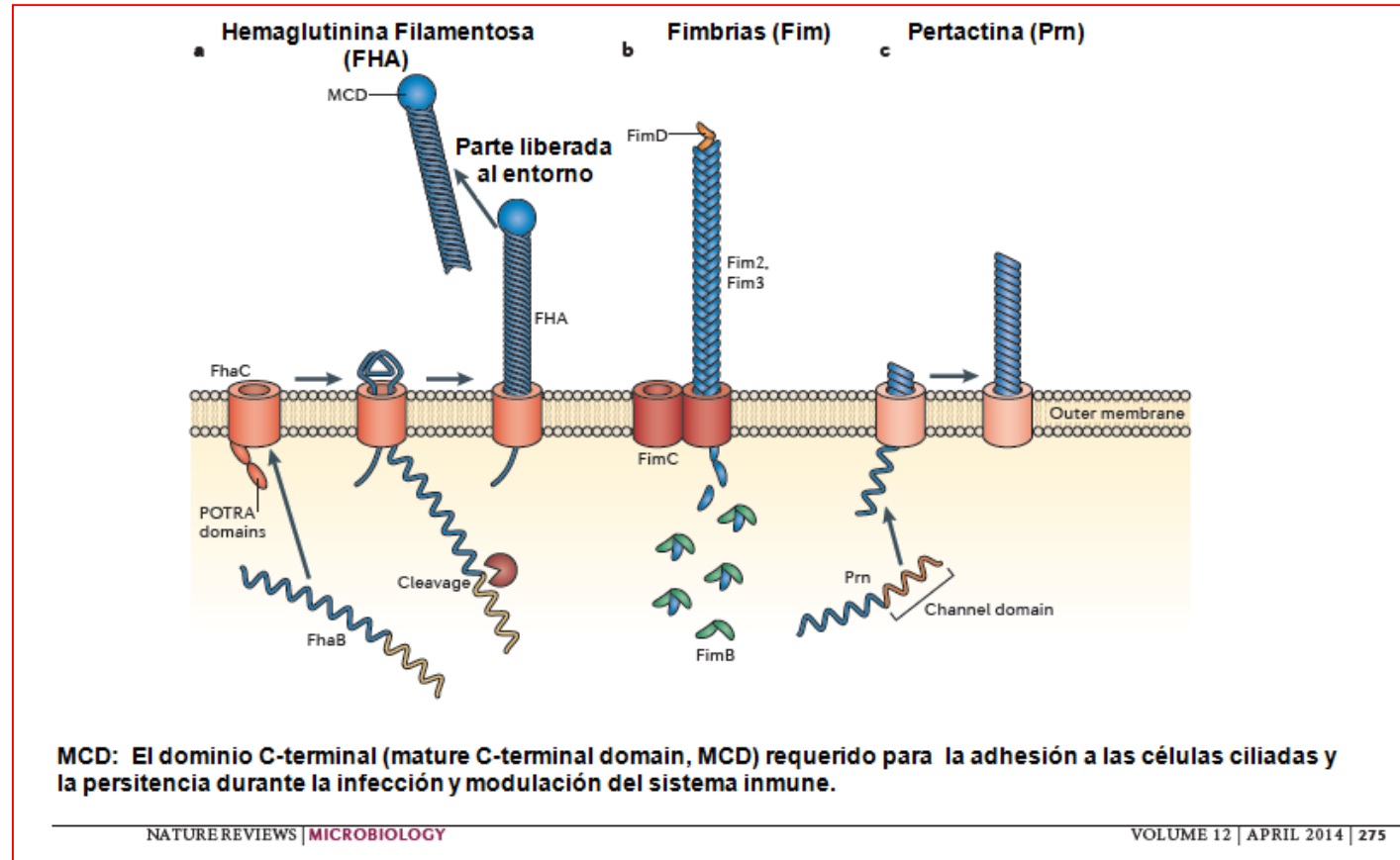
La patología es inmunoprevenible y afecta preferentemente a los niños menores de 1 año de edad, quienes desarrollan los casos más severos, aunque también se presenta en la población adolescente y adulta.

Existe una enfermedad clínicamente similar, denominada síndrome coqueluchoide producida por *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, virus sincicial respiratorio, adenovirus entre otros.

Bordetella pertussis



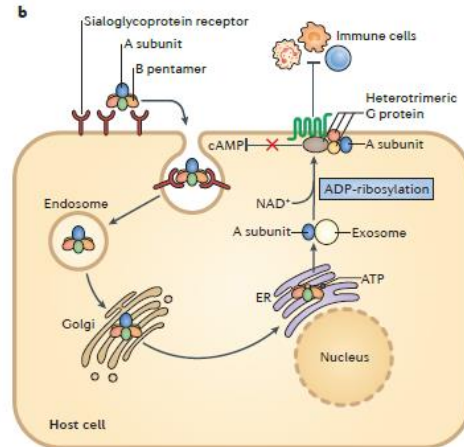
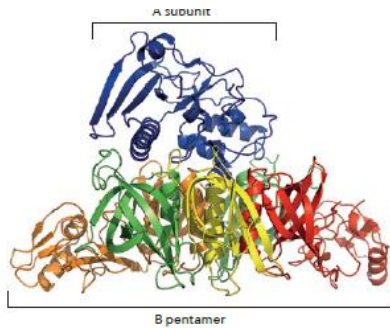
Adherencia



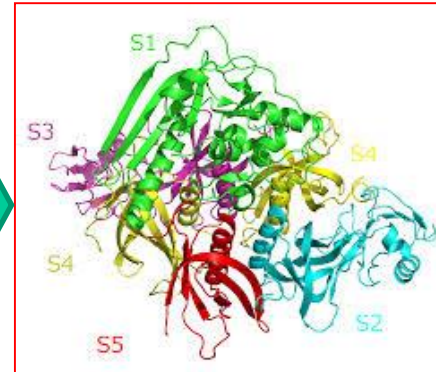
Outer membrane: membrana externa

Toxinas

Toxina pertussis (PT)

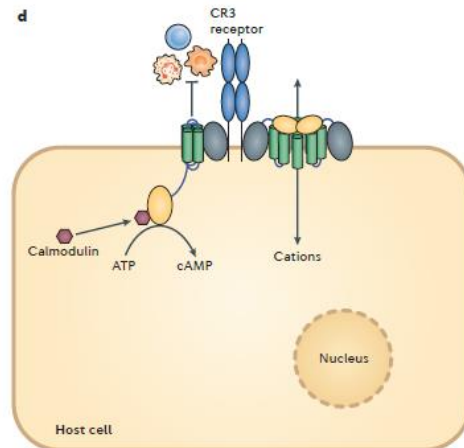
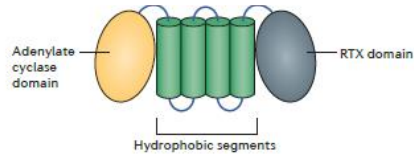


Toxina A+B



Subunidad A:
S1
Subunidad B:
S2, S3, 2(S4),
S5.

Adenilato ciclasa (ACT)



Toxina bifuncional

-Hemolisina
-Adenilato ciclasa
(requiera calcio
y calmodulina

Acción de PT y ACT

PT

Mecanismo $G_{i/o}$ dependiente

La PT es internalizada por la célula del huésped, principalmente macrófagos con sus 5 subunidades y la S1 transfiere de un residuo de ADP-ribosa principalmente a las proteínas $G_{i/o}$.

La ADP-ribosilación de $G_{i/o}$ resulta en una acumulación de AMP cíclico que altera procesos metabólicos y de señalización.

A nivel de la mucosa respiratoria disminuye las funciones quimiotácticas de los macrófagos, reduciendo el influjo de neutrófilos.

Mecanismo de la PT $G_{i/o}$ independiente

Inducción de IL-10. Interacción de la parte B de la toxina principalmente con los receptores TLR4 induciendo la maduración de las células dendríticas y modulando la respuesta inmune.

ACT

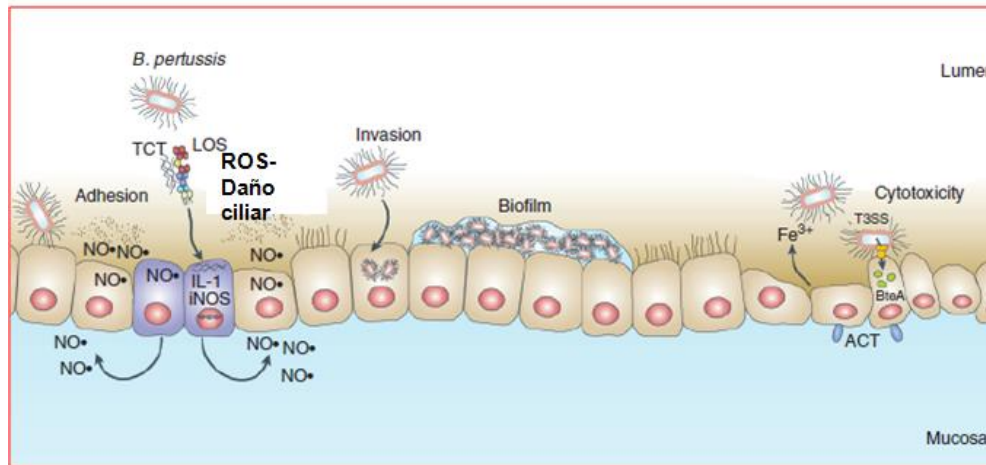
Como hemolisina induce la entrada de Ca^{2+} a la célula por la formación de poros en la membrana.

Aumenta enormemente el cAMP intracelular dañando las funciones bactericidas de PMN y macrófagos.

**Tanto TP como ACT son
antifagocitarias**

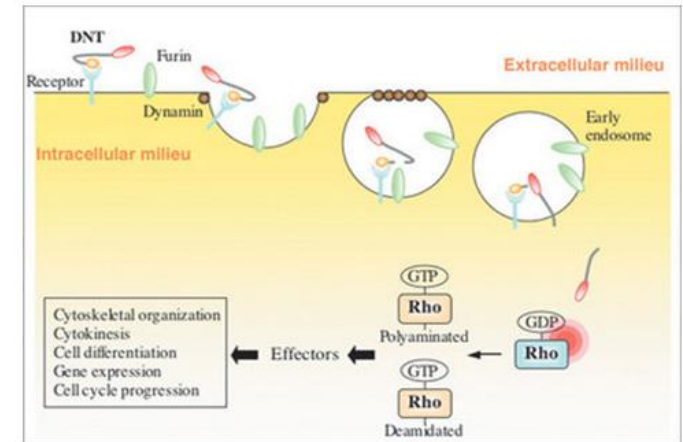
Toxinas

Citotoxina traqueal (TCT)



FEMS Microbiol Rev 35 (2011) 441–474

Toxina Dermonecrótica (DNT)



TCT: es un monómero del peptidoglicano que se libera durante la remodelación de la pared celular. *Bordetella pertussis* no realiza el reciclaje.

El efecto de TCT sobre las células epiteliales ciliadas se debe a la acumulación de óxido nítrico que causa la citotoxicidad.

Produce aumento de IL-1β.

La DNT: activación constitutiva de GTPasas Rho, con la consiguiente reorganización del citoesqueleto de la célula huésped, entre otros efectos. Se libera luego de la lisis bacteriana, colabora en el daño del epitelio ciliado.

Sistema de dos componentes:

BvgAS (Bordetella virulence gene activador / sensor).

BvgAS es un regulador transcripcional de los genes de virulencia

La regulación obedece a cambios en el entorno da lugar al fenómeno denominado “modulación de fases” originando 3 estadios fenotípicos:

- i) La fase virulenta o Bvg⁺,
- ii) La fase avirulenta o Bvg⁻ y
- iii) la fase intermedia o Bvgⁱ, etapa de transición entre las fases Bvg⁺ y Bvg⁻

- Durante la transmisión de persona a persona *B. pertussis* se encuentre en fase Bvg⁻.

- En el inicio de colonización del huésped podría prevalecer la fase Bvgⁱ .
que favorece la adherencia y/o la internalización de la bacteria.

-Posteriormente estaría presente la fase Bvg⁺ que favorece la expresión de las toxinas que este sistema regula alterando los mecanismos de defensa del huésped.

Otros factores

Proteínas efectoras secretadas por SST3: Actúan modulando el sistema inmune y algunas parecen tener efecto citotóxico en las células epiteliales ciliadas.

LOS (lipo-oligosacárido): múltiples mecanismos para evadir la detección y eliminación de la bacteria por el sistema inmune.

Cápsula: No tiene relevancia en la patogénesis, o es aún desconocida.

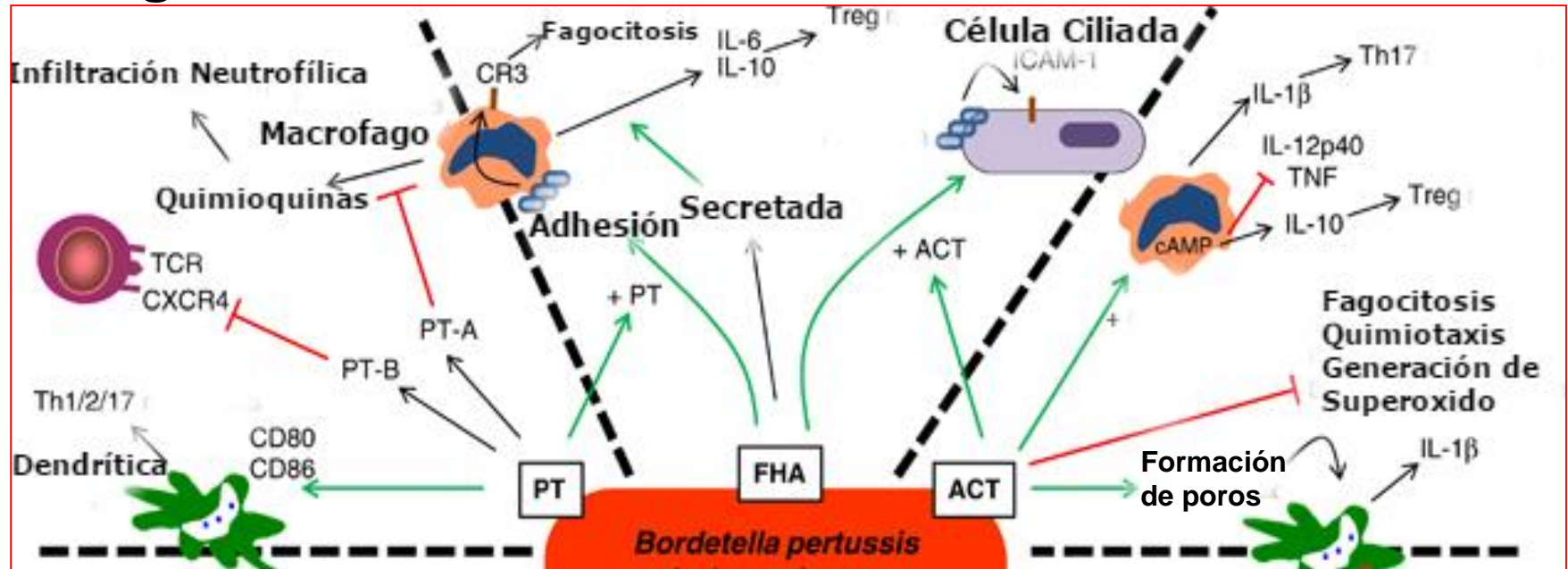
Patogenia de la Infección

La transmisión es por inhalación de los aerosoles originados por el estornudo o el tosido de una persona infectada. Durante su establecimiento la bacteria se adhiere a las células epiteliales ciliadas tanto de la nasofaringe como del árbol traqueobronquial mediante sus adhesinas y la colaboración de PT.

En la etapa de establecimiento la bacteria evade la inmunidad innata induciendo mecanismos anti-inflamatorios y anti-fagocíticos.



Patogenia de la Infección



Mucosal Immunology 20 June 2012. doi: 10.1038/mi.2012.54

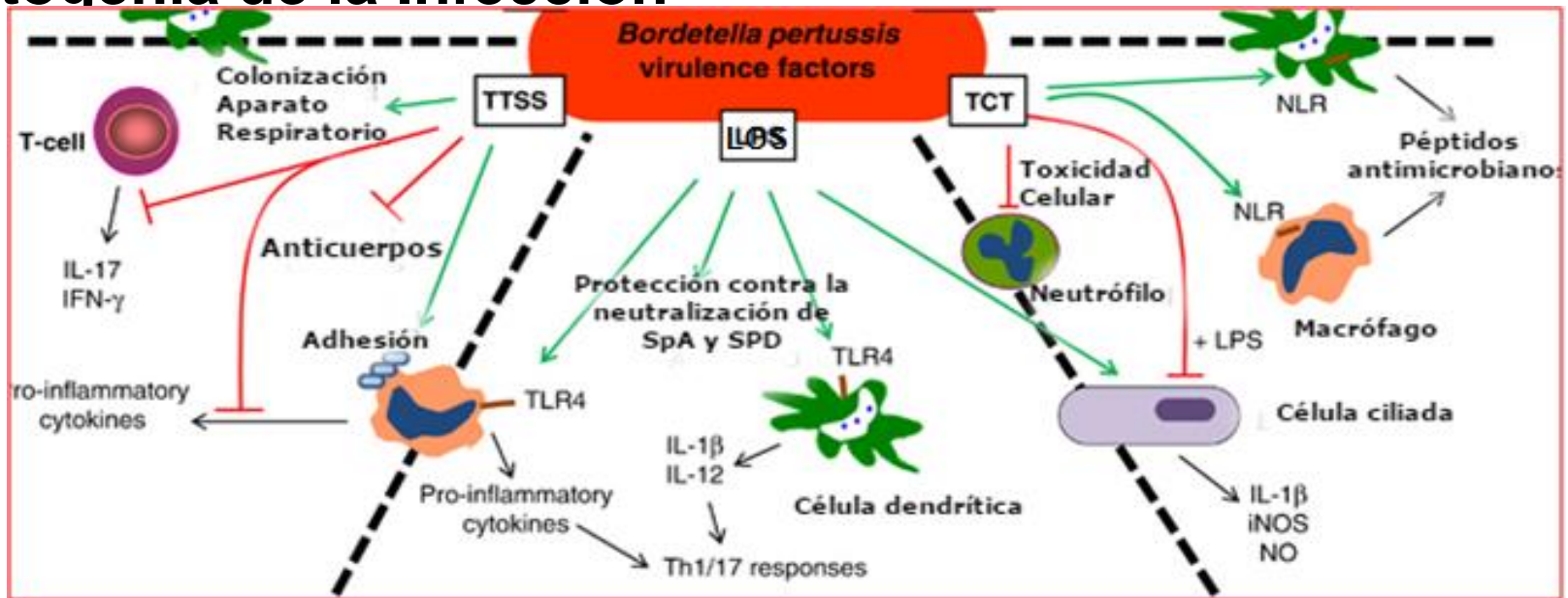
-FHA : adhesina e invasina. Células epiteliales ciliadas y macrófagos. (Pertactina colaboraría en la adhesión y en la internalización). La bacteria puede sobrevivir y multiplicarse en los macrófagos.

La FHA secretada: inmunomodulador, liberación de IL-6 y IL-10 de macrófagos y de células dendríticas y por lo tanto promoviendo la inducción de células Treg.

-Evasión de la fagocitosis, principalmente por la acción de PT y ACT sobre los macrófagos inhibiendo la expresión de quimioquinas que resulta en la disminución del influjo de neutrófilos en las vías aéreas.

-ACT posee también acción directa sobre los neutrófilos inhibiendo la fagocitosis y sus mecanismos oxidativos e induce la liberación de IL-10 en macrófagos.

Patogenia de la Infección



NLR: nucleotide-binding and oligomerization domain (NOD)-like receptor.

TTSS: sistema de secreción tipo III (proteínas efectoras).

Sp: Proteínas surfactantes.

La alta concentración de TCT que se libera durante el desarrollo bacteriano produce la extrusión de las células ciliadas. Acumulación de moco originando los paroxismos de tos.

En la destrucción de las células ciliadas también intervienen los LOS y posiblemente DNT.

Como complicaciones del coqueluche la bacteria puede llegar al pulmón. En este caso sus LOS también actúan evadiendo la respuesta inmune ya que no son reconocidos por las proteínas surfactantes SP-A y SP-D y por lo tanto previenen la fagocitosis de la bacteria.

El sistema de secreción Tipo III representa un aparato de secreción especializado, que permiten la traslocación de proteínas efectoras directamente al citosol de la célula de huésped. Todas las proteínas efectoras no están caracterizadas. Actúan principalmente sobre las células inmunes de manera que favorecen la colonización bacteriana.

Respuesta Adaptativa Frente a *B. pertussis*

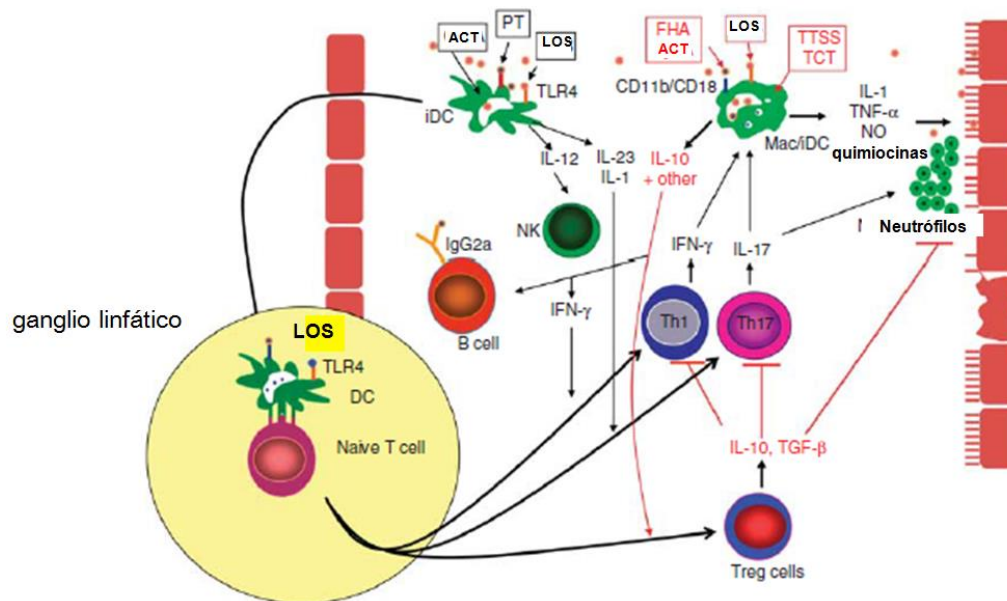
El perfil de respuesta adaptativa generado por la infección es mixto TH1/TH17.

LOS promueven una respuesta Th1/Th17.

PT y ACT promueven la generación de células Th17.

-La respuesta protectora causa el reclutamiento y activación de los macrófagos y los neutrófilos. Las bacterias opsonizados o no opsonizadas son fagocitadas por neutrófilos y macrófagos induciendo su muerte.

-El IFN- γ secretado en la fase temprana de la infección por las células NK, entre otras, y luego por las células Th1 actúa sobre los linfocitos B estimulándolos a secretar anticuerpos opsonizantes y fijadores de complemento. Los anticuerpos contra ciertos antígenos de *B. pertussis* presentan la capacidad de evitar la adhesión a las células epiteliales mediante el bloqueo de adhesinas, la neutralización de toxinas bacterianas y la opsonofagocitosis.



DC: Célula Dendrítica

Mac/DC: Macrófago/ Célula Dendrítica

Manifestaciones Clínicas

La enfermedad se caracteriza por presentar tres períodos secuenciales:

Período Catarral: signos y síntomas inespecíficos como coriza, rinorrea, lagrimeo y ocasionalmente fiebre leve o moderada. *B. pertussis* puede ser aislada a partir de las secreciones nasofaríngeas de los pacientes. Su duración es de una a dos semanas.

Período Paroxístico: numerosos estallidos de tos propios de la enfermedad y relacionados con la falta del “clearance” ciliar del moco en las vías respiratorias. Los pacientes pueden presentar ocasionalmente hipoglucemia. Este período se caracteriza por leucocitosis con marcado predominio de linfocitos. ~~Ya la bacteria no se aísla de la nasofaringe. Sin complicaciones duración 1-6 semanas.~~

Período Convaleciente: Disminuyen los paroxismos y el paciente se recupera. prolongarse por más de dos semanas. En este período la intensidad y la frecuencia de la sintomatología van disminuyendo hasta desaparecer aunque en algunos casos, los accesos de tos pueden persistir manera aislada durante tres o cuatro meses.

La principal complicación: neumonía

Primaria por *B. pertussis*

Secundaria a la sobreinfección por otras especies bacterianas que pueden acceder a las vías aérea inferiores desde la nasofarínge.

La neumonía es la primera causa de muerte y ocurre más frecuentemente en niños menores de 1 año.

Otras Complicaciones: epistaxis, hemorragia subconjuntival, ruptura del diafragma, hernia umbilical e inguinal, prolapso rectal y deshidratación.

En la actualidad el Coqueluche constituye una de las diez primeras causas de mortalidad infantil asociadas a enfermedades infecciosas.



El diagnóstico temprano y la implementación del tratamiento limita la diseminación del patógeno en la población.

Individuo infectado no tratado: puede transmitir la infección durante tres semanas o más después del inicio de la sintomatología.



Boletín Integrado de Vigilancia N° 321

Clínica compatible con Conqueluche. Caso sospechado. Investigar *B. pertussis*

Menores de 6 meses: Toda infección respiratoria aguda, con al menos uno de los siguientes síntomas: Apnea, cianosis, estridor inspiratorio, vómitos después de toser o tos paroxística.

Mayores de 6 meses hasta 11 años: Tos de 14 o más días de duración acompañado de uno o más de los siguientes síntomas: tos paroxística, estridor inspiratorio o vómitos después de la tos, sin otra causa aparente.

Mayores de 11 años: tos persistente de 14 o más días de duración, sin otra sintomatología acompañante.

Estridor inspiratorio: Es un sonido respiratorio anormal, chillón y musical causado por un bloqueo en la garganta o la laringe. Generalmente se escucha al inhalar.

Diagnóstico Microbiológico

Métodos Directos en el aspirado nasofaríngeo comprendiendo el cultivo y técnicas de detección de ADN y también por métodos indirectos por serología.

Métodos Directos aspirado nasofaríngeo (NF)

Aislamiento e identificación

Muestras:

- Aspirados NF: mejor muestra
- Hisopados NF: desventaja menos muestra.
- Hisopado faringeo: mala muestra para cultivo

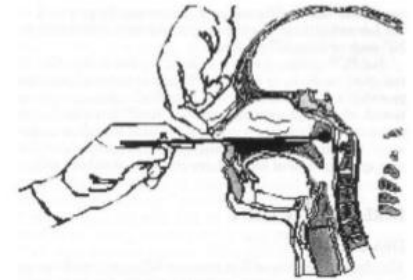
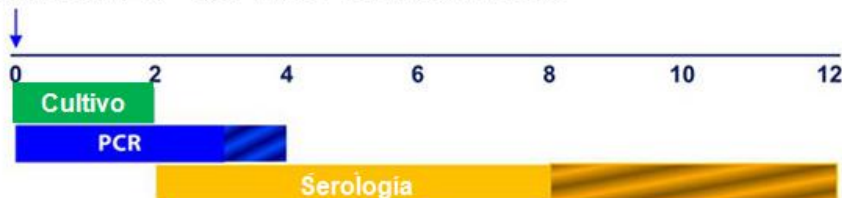


FIGURE 1 Correct positioning of patient's head and placement of the swab for collection of NP specimens (reprinted from reference 12). (Courtesy of Kris Bugard, Centers for Disease Control and Prevention.)

Semanas de la enfermedad

Comienzo de los síntomas



Cultivo

Requiere medios especiales como Bordet y Gengou suplementado con 10% de sangre de oveja o agar Regan-Lowe modificado.

El aislamiento se logra luego de 5-7 días de incubación.

La especificidad es del 100% pero su sensibilidad está relacionada al momento de obtención de la muestra durante la enfermedad.

El mejor momento para la toma de muestra para cultivo es durante la fase catarral y la sensibilidad disminuye como progresa la fase de paroxismos.

El cultivo es negativo generalmente después de las 2 semanas del inicio de la tos.

Diagnóstico

■ Medio Bordet – Gengou



Diagnóstico

■ Agar Regan- Lowe



Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Las secuencias blancos de amplificación usadas con más frecuencia para detectar *B. pertussis* son:

La secuencia de inserción 481 (IS481)

La región promotora del gen que codifica para la toxina pertussis (*ptx*).

Para detectar a *B. parapertussis* como otro posible agente causal de coqueluche, se emplea los cebadores que amplifican la secuencia de inserción IS1001.

Especie	Primers IS481	Primers pIS1001	Primers <i>ptx</i>
<i>B. pertussis</i>	+	-	+
<i>B. parapertussis</i>	-	+	-
<i>Bordetella spp</i>	+	-	-

Estudios serológicos.

Pacientes en los cuales la última dosis de vacuna haya sido aplicada 3 años antes (o más) del momento de toma de la primera muestra.

Principalmente ELISA (IgG).

Se realiza empleando como antígeno una suspensión celular de *B. pertussis* sonificada.

Se utilizan dos muestras de suero obtenidas con 21 días de diferencia. La primera muestra debe corresponder a la fase aguda de la enfermedad y la segunda a la convaleciente.

Se considerará un caso confirmado por serología cuando, el individuo presenta clínica compatible con Coqueluche, y seroconversión (variación de al menos dos a cuatro títulos).

Los ensayos actuales para IgA e IgM carecen de sensibilidad y especificidad.

Un resultado negativo por cualquier técnica diagnóstica (cultivo, PCR o serología) no descarta el caso, y deberá notificarse como No conclusivo.

El caso deberá analizarse en base a los datos clínicos-epidemiológicos para su clasificación final.

Los resultados de las distintas metodologías diagnósticas pueden no concordar ya que cada una de ellas depende diferencialmente de factores como edad del paciente, fase de la enfermedad, tratamiento con antimicrobianos, estado inmunológico, etc.



CLASIFICACIONES DE CASO

Caso confirmado:

- Paciente con infección respiratoria que presenta tos de cualquier duración y con cultivo positivo para *B. pertussis*.**
- Paciente con clínica compatible de Coqueluche y resultados positivos en el laboratorio mediante ensayos de PCR específicos.**
- Paciente con clínica compatible de Coqueluche y resultados positivos (seroconversión) en el laboratorio mediante ensayo serológico específico.**
- Paciente con clínica compatible de Coqueluche y nexa epidemiológico con caso confirmado por laboratorio.**

Caso probable:

- Paciente con clínica compatible con Coqueluche y sin confirmación por laboratorio (no estudiado o resultados de laboratorio No conclusivos).**
- Paciente con clínica incompleta o datos insuficientes y con resultado positivo por PCR o por seroconversión.**

Caso descartado:

Clínica incompleta o datos insuficientes, laboratorio negativo y sin nexa epidemiológico con un caso confirmado.

El Coqueluche una enfermedad de notificación obligatoria (Ley 15465).

**Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud de Argentina (SNVS),
recibe las denuncias de las enfermedades de notificación obligatoria.**

El SNVS es una red que conecta de manera oportuna a los distintos efectores que se encuentran distribuidos en las 24 jurisdicciones (23 provincias y la Ciudad Autónoma de Buenos Aires), quienes comparten e intercambian información.

Epidemiología

Coqueluche es una enfermedad respiratoria aguda altamente contagiosa.

Tasa de contagio

Familiares susceptibles : 90%

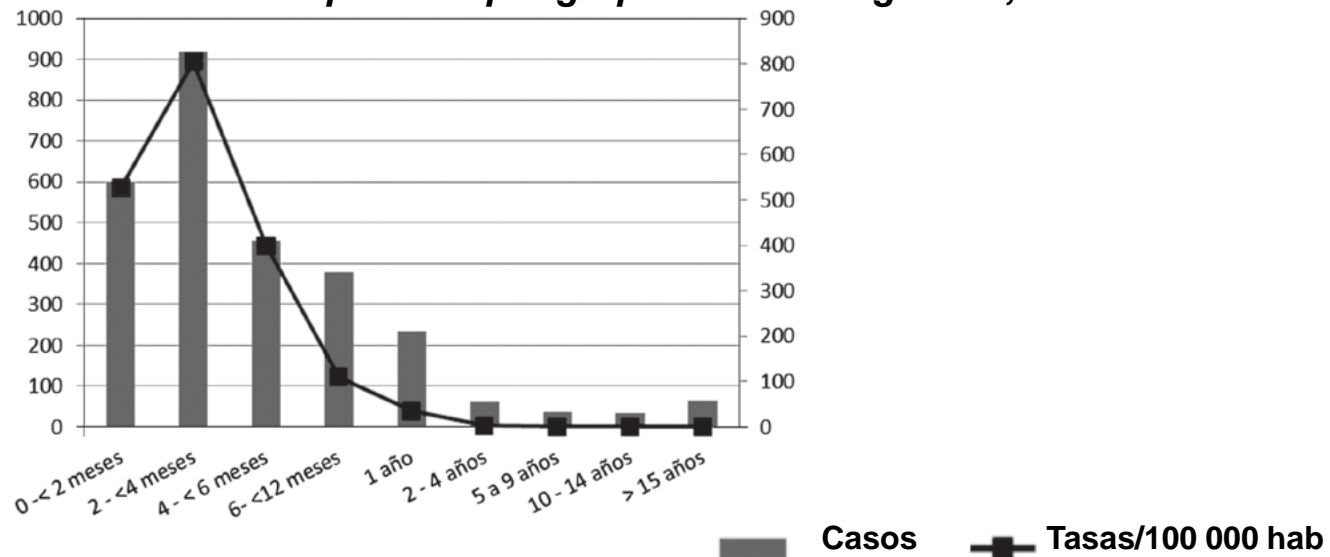
Ámbitos escolares entre 50% y 80%.

Es una enfermedad endemo-epidémica, con brotes epidémicos cada 3-5 años.

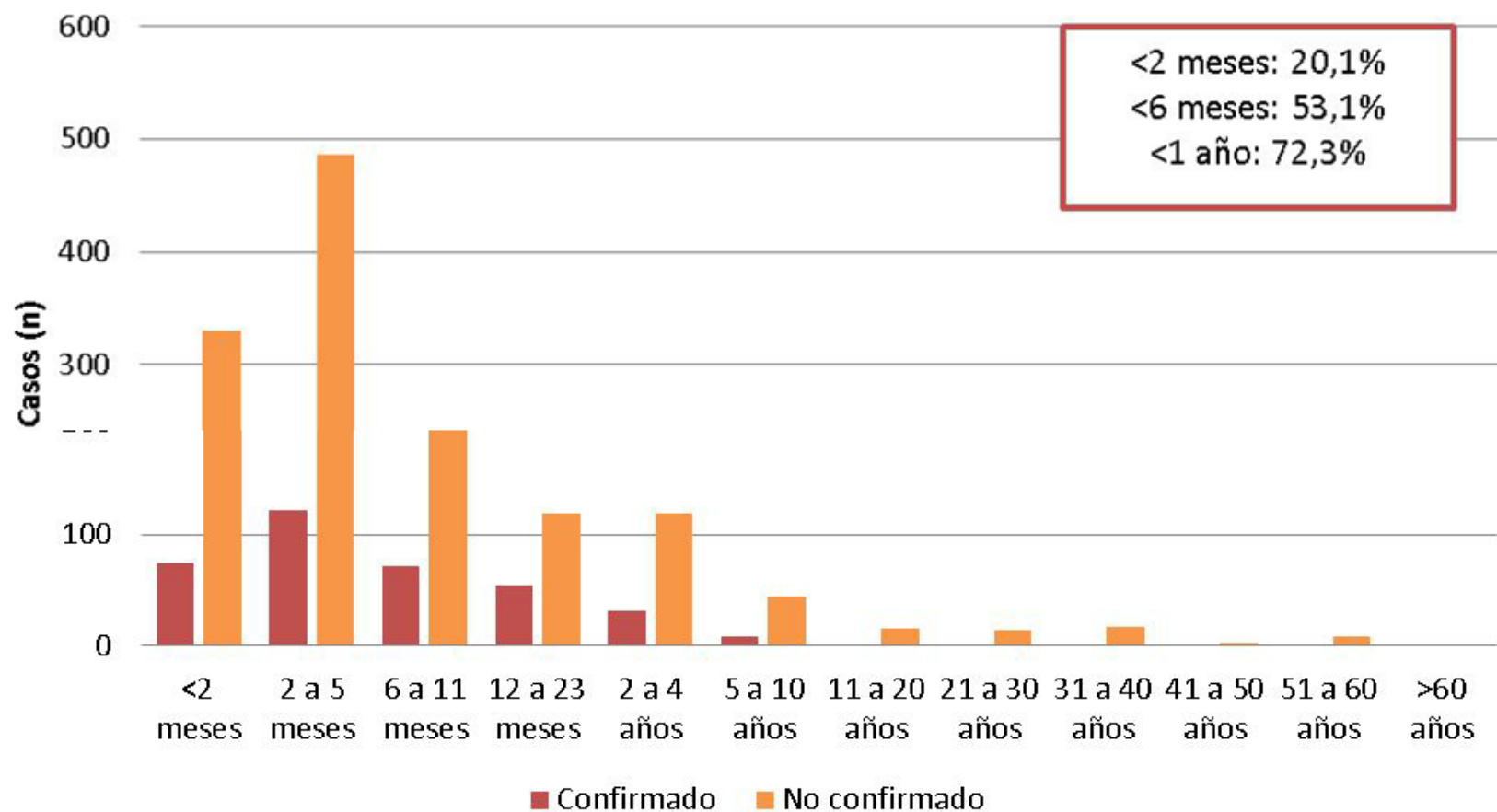
La transmisión es máxima en el período catarral y durante las dos primeras semanas desde del inicio de la tos

La población más susceptible: niños menores de 5 años, presentando mayor riesgo de contagio, de complicaciones y mortalidad los menores de 6 meses.

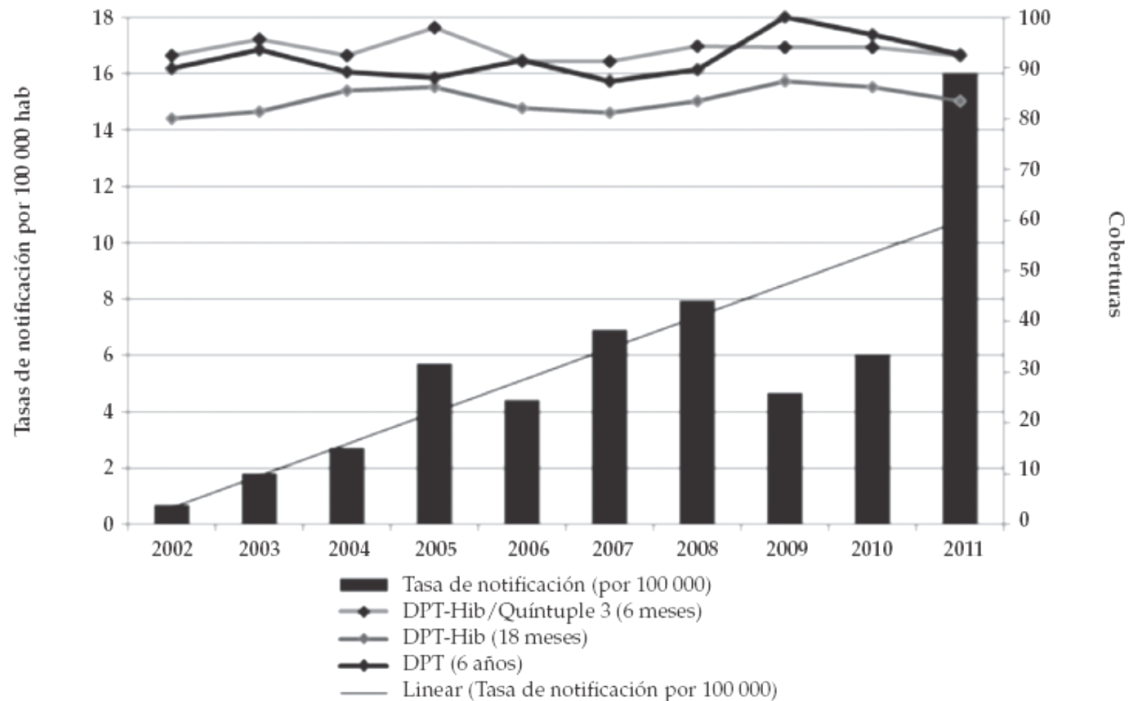
Casos y tasas de incidencia de coqueluche por grupo de edad. Argentina, 2011



Coqueluche: casos sospechosos y confirmados. Argentina. Año 2016 (SE1-18).



Casos notificados de coqueluche y cobertura de vacunación. Romanina et al, 2014.



La notificación de casos sospechosos mostró una tendencia ascendente, que alcanzó la mayor tasa en 2011: 16 x 100 000 habitantes.

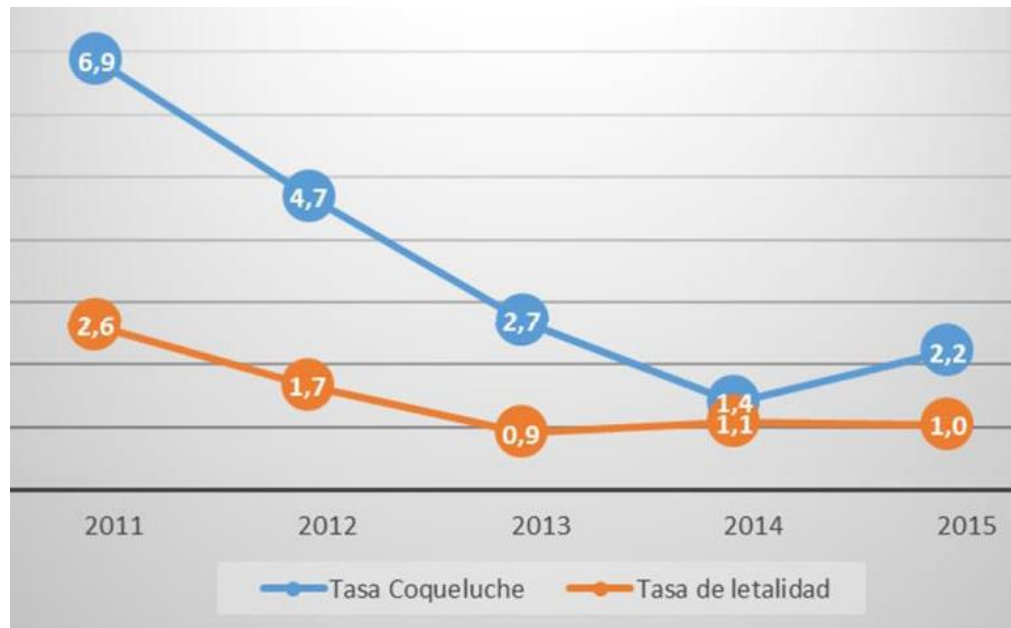
A partir del año 2012 nuevas estrategias de vacunación

Boletín Integrado de Vigilancia N° 321



Ministerio de Salud
Presidencia de la Nación

La letalidad de Coqueluche descendió un 65% comparando los períodos pre y post introducción de la vacuna triple bacteriana acelular en el embarazo.



Incorporación de la vacunación con dTpa a las mujeres embarazadas a partir de La semana 20 de gestación al Calendario Nacional de Vacunación a partir de 2013 (Resolución Ministerial 2172/13). Estrategia para obtener mayor transferencia transplacentaria de anticuerpos logrando el aumento de protección en los niños menores de 6 meses.

Plan de Vacunación

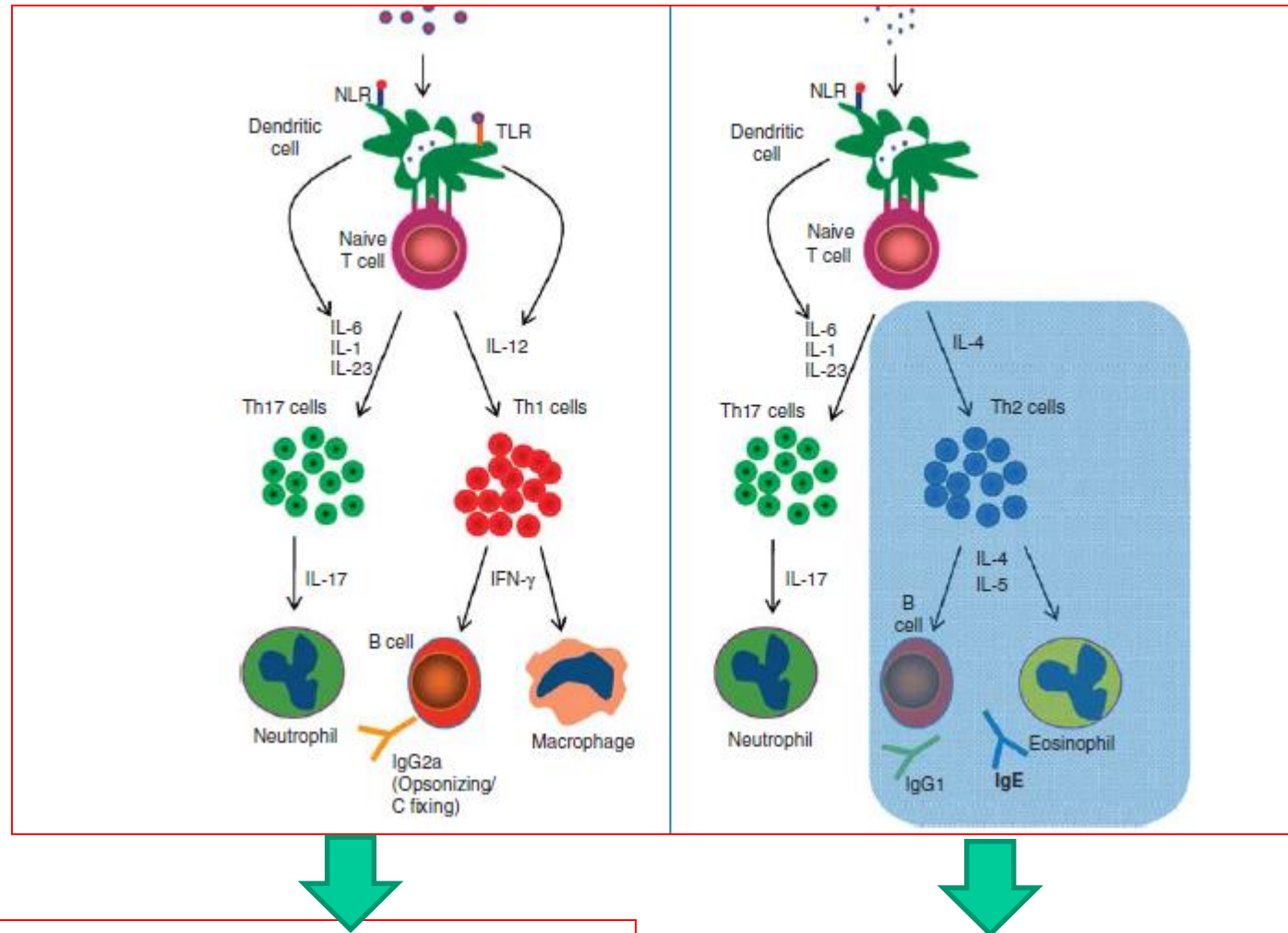
- 1) A los 2, 4 y 6 meses, vacuna pentavalente o quintuple (DTP + Hib + HB: toxoide diftérico y tetánico purificados, concentrado estéril de células inactivadas de *B. pertussis*, PRP de *H. influenzae* b conjugado y antígeno de superficie recombinante del virus de la hepatitis B).
- 2) Refuerzo a los 18 meses con la vacuna cuádruple (DTP+Hib)
- 3) Refuerzo a los 6 años con la vacuna triple bacteriana celular (DTP)
- 4) A los 11 años dosis única de vacuna triple bacteriana acelular (dTpa: toxoide diftérico y tetánico, FHA, PT y pertactina).
- 5) La vacuna dTpa se administra también durante el embarazo a partir de la semana 20 de gestación; a puérperas que no se hayan vacunado o en el posparto inmediato;
- 6) Al personal de salud que presta cuidado a niños menores de un año y a convivientes de prematuros menores de 1500 gramos.*

* Efecto nodriza

¿Por que esquema mixto de vacunación?

Vacuna Celular

Vacuna Acelular



Induce una respuesta Th1/Th17 protectora en donde interviene también los LOS y otros PAMPS.

Induce principalmente respuesta Th2. IgE e IgG neutralizan a las toxinas y evitan la adherencia de la bacteria al tracto respiratorio. Una pequeña respuesta Th17 se logra mediante los adyuvantes.

Vacuna celular (cP): introducida en el mundo 1940.



Rápida reducción de incidencia de la enfermedad y del número de muertes.



En los años 70 se publica el estudio del The National Childhood Encephalopathy (NCES), que reporta daño neuronal ocasionado por la vacuna. Muchos países abandonan su uso. Resultado refutado posteriormente.



En los 80 surgen las diferentes vacunas acelulares (aP). Varios países la utilizan únicamente en sus planes vacunales.



Aunque aP es menos reactogénica que cP, actualmente se sabe que es menos efectiva por el tipo de inmunidad que confiere.

Duración de la protección conferida por las vacunas.

Vacuna celular comienza a declinar luego de 5 años, con ausencia de protección demostrable luego de 12 años.

Vacuna acelular aparentemente declina luego de 5 años.

¿Por qué aumenta el coqueluche en el mundo?

- Aumento de la sensibilidad de los métodos diagnósticos.**
- Optimización de los sistemas de notificación y vigilancia.**
- Disminución de la inmunidad natural en el tiempo.**
- Duración de la protección conferida por las**

vacunas.

-Diversidad alélicas en los antígenos de la población bacteriana

[Clin Vaccine Immunol.](#) 2016 Nov 4;23(11):842-850..

Highlights of the 11th International Bordetella Symposium: from Basic Biology to Vaccine Development.

[Carbonetti NH](#)¹, [Wirsing von König CH](#)², [Lan R](#)³, [Jacob-Dubuisson F](#)⁴, [Cotter PA](#)⁵, [Deora R](#)⁶, [Merkel TJ](#)⁷, [van Els CA](#)⁸, [Locht C](#)⁴, [Hozbor D](#)⁹, [Rodriguez ME](#)¹⁰.

[Author information](#)

¹University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA ncarbonetti@som.umaryland.edu.

²Labor:Medizin Krefeld MVZ GmbH, Krefeld, Germany.

³School of Biotechnology and Biomolecular Sciences, University of New South Wales, Sydney, New South Wales, Australia.

⁴Institut Pasteur de Lille, Inserm U1019, CNRS UMR8204, University of Lille, Center for Infection and Immunity of Lille, Lille, France.

⁵University of North Carolina-Chapel Hill School of Medicine, Chapel Hill, North Carolina, USA.

⁶Wake Forest School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina, USA.

⁷Center for Biologics Evaluation and Research, FDA, Silver Spring, Maryland, USA.

⁸Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, the Netherlands.

⁹IBBM, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

¹⁰CINDEFI (CONICET-UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

Abstract

Pertussis is a severe respiratory disease caused by infection with the bacterial pathogen *Bordetella pertussis*. The disease affects individuals of all ages but is particularly severe and sometimes fatal in unvaccinated young infants. Other *Bordetella* species cause diseases in humans, animals, and birds. Scientific, clinical, public health, vaccine company, and regulatory agency experts on these pathogens and diseases gathered in Buenos Aires, Argentina from 5 to 8 April 2016 for the 11th International Bordetella Symposium to discuss recent advances in our **understanding of the biology of these organisms, the diseases they cause, and the development of new vaccines and other strategies to prevent these diseases.** Highlights of the meeting included pertussis epidemiology in developing nations, genomic analysis of *Bordetella* biology and evolution, regulation of virulence factor expression, new model systems to study *Bordetella* biology and disease, effects of different vaccines on immune responses, maternal immunization as a strategy to prevent newborn disease, and novel vaccine development for pertussis. In addition, the group approved the formation of an International Bordetella Society to promote research and information exchange on bordetellae and to organize future meetings. A new Bordetella.org website will also be developed to facilitate these goals.

Muchas Gracias !!!!!!!!!!!

catalano@fmed.uba.ar