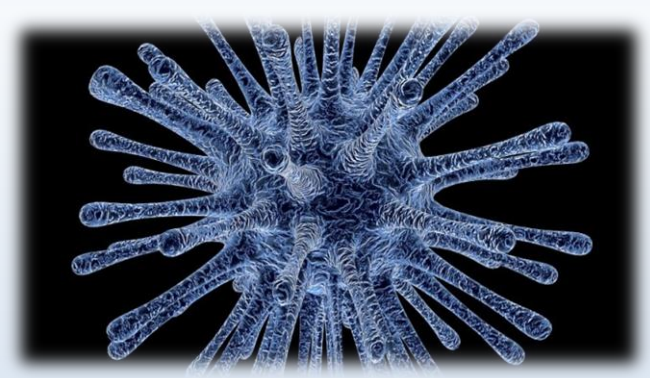




**FACULTAD DE MEDICINA
UNIDAD DE DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES
INFECCIOSAS
LABORATORIO DE SALUD PUBLICA DEL ESTADO**



VIRUS ZIKA

**No era suficiente con Dengue y
Chikungunya**

**DRA. SILVANA VIELMA ANGARITA. M.D., PhD.
INMUNOLOGIA Y MICROBIOLOGIA
PROFESOR TITULAR
Marzo - 2016**



Infección por Virus Zika: Concepto

- La infección por virus Zika, es una enfermedad febril aguda autolimitada causada por el virus Zika (ZIKAV)
- Transmitida por la picadura de mosquitos del genero *Aedes*.
- Es una enfermedad similar a las causadas por Virus Dengue y Chikungunya, pero de carácter más leve.



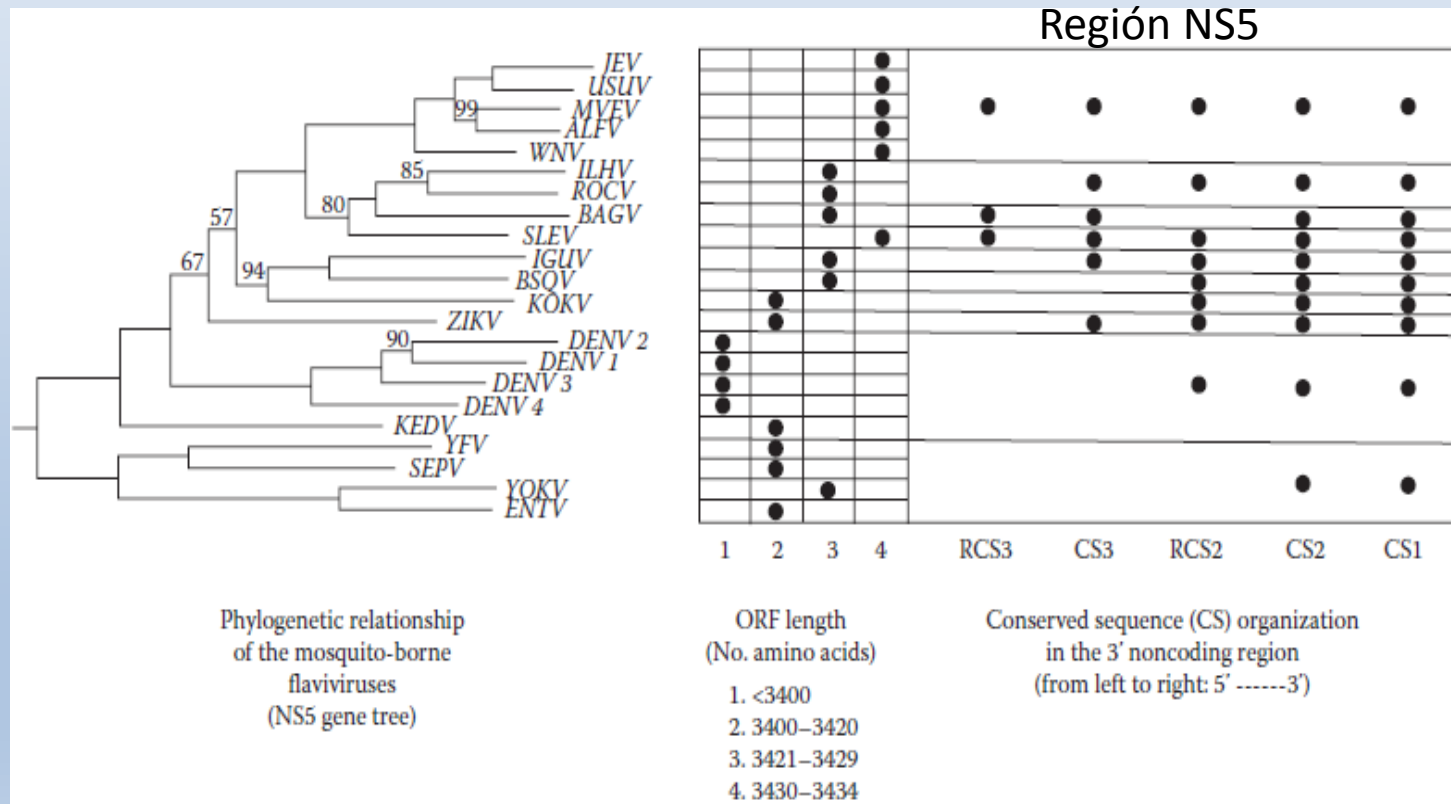
Virus Zika: Filogenia

- Virus Zika (ZIKV): Flavivirus, aislado en 1947 de un mono sentinela en los bosques de Zika en Uganda

Tres genotipos

ZIKV:

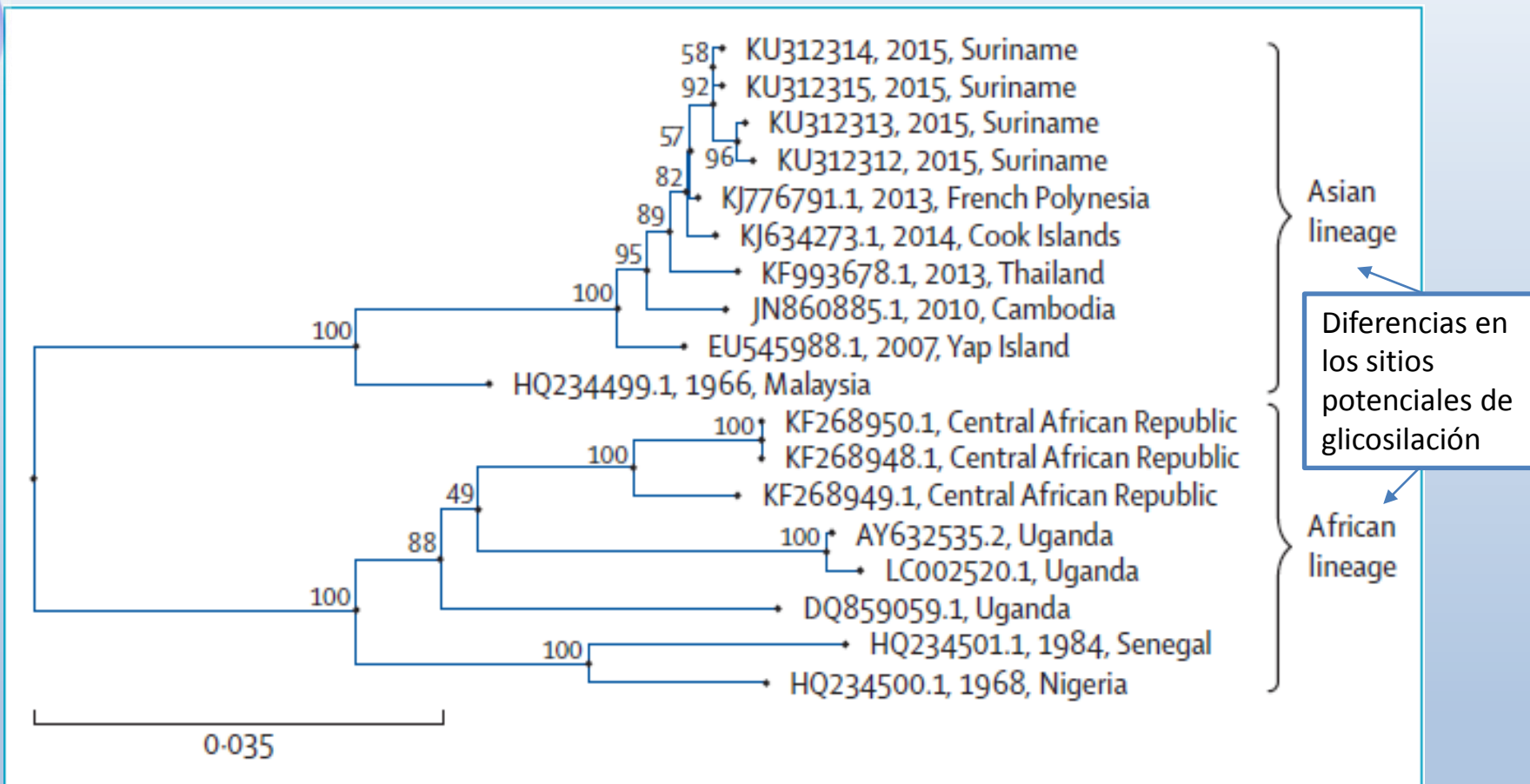
Senegal, prototipo
Uganda, y Yap



Relaciones filogeneticas cercanas: Virus Spondweni y Virus Dengue. Lejano de VFA



Virus Zika: Filogenia americana



- Relaciones filogenéticas entre las secuencias de los genes de la envoltura del Virus Zika utilizando el modelos GTR+G+I de cepas de virus de Suriname, VZ linaje Africano y linaje Asiático. La cepa Suriname provenia de linaje Asiático



Virus Zika: Genoma

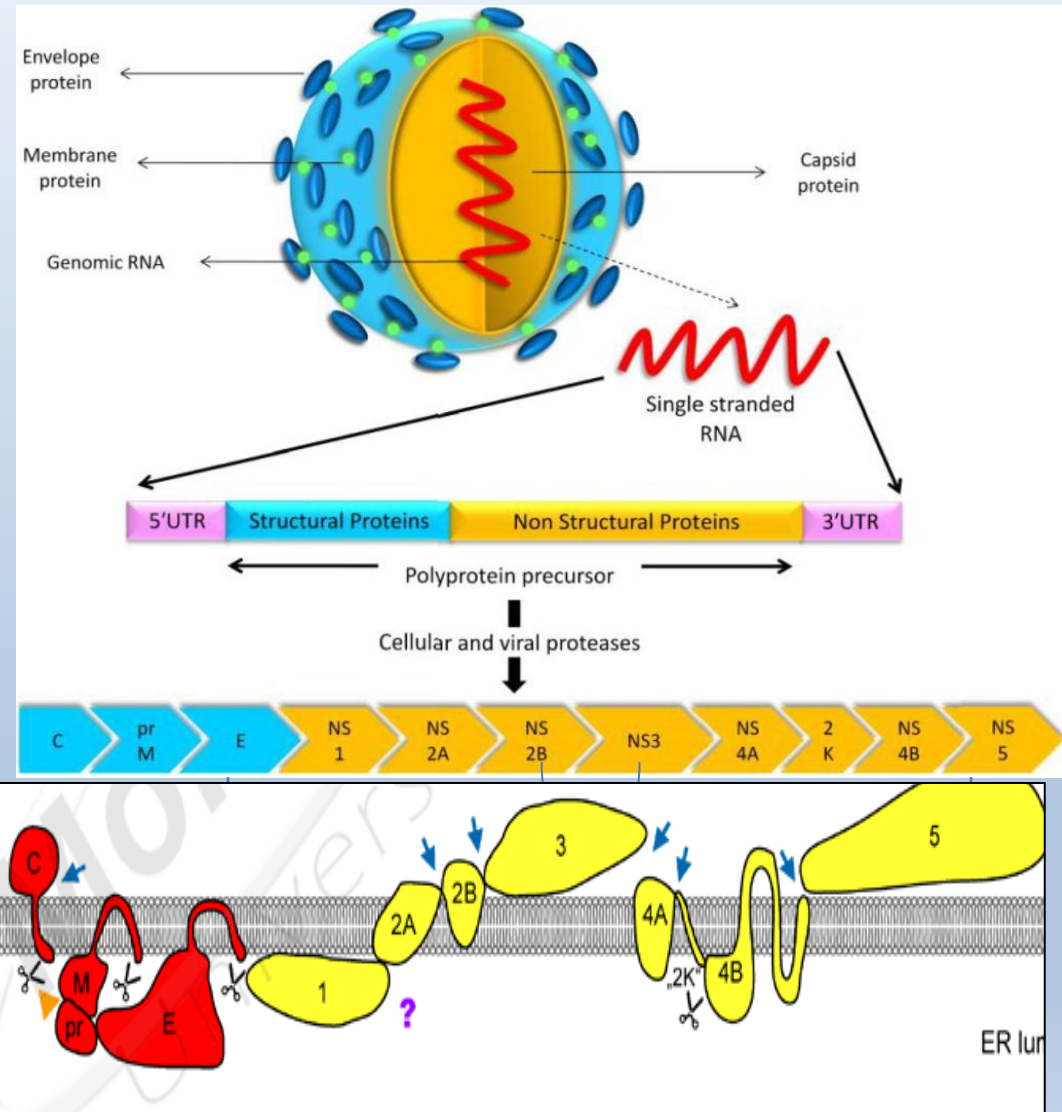


El genoma: cadena única de ARN, polaridad positiva

- Cepa prototipo (MR-766), aislada en 1947 en Uganda: longitud 10,7 pb

ORF: en sentido 5' > 3':

- Estructurales: capsida (105aa), membrana-premembrana (187aa), envoltura (505aa).
- Proteínas no estructurales: NS1 (352aa), NS2A (217aa), NS2B (139aa), NS3 (619aa), NS4A (127aa), NS4B (255aa) y NS5 (904).





Virus Zika: Proteínas y sus funciones

Proteína	Función	Efecto sobre el hospedero
C	Unión al ARN para formar la nucleocapside, asistencia durante la estabilización, conformación-folding y secreción de la proteína E	Los Anti- prM incrementa la infectividad del virión inmaduro. Involucrada en patogénesis de infecciones Dengue Severo secundario.
E	Receptor de adherencia, fusión membrana	Invasión celular
NS1	Replicación viral	Localiza en la superficie celular y es secretado extracelularmente, modula la señalización del sistema inmune innato, Anti-NS1 median trombocitopenia, daño endotelial, antagoniza C4, INF e induce apoptosis.
NS2A	Síntesis e ARN y ensamblaje viral	Carga viral
NS3	Complejo con NS2B actúa como proteasa de serina. Posee helicasa ARN, actividad triptofatasa	Induce apoptosis celular, modula microRNA en célula infectada, blanco de los Linf CD8+ citotóxicos. Bloquea la señalización del INF-tipo I y los iARN, modula liberación de gránulos de stress de la célula



Virus Zika: Proteínas y sus funciones



Proteína	Función	Efecto sobre el hospedero
NS4A	Replicación ARN	Bloquea la señalización del INF-tipo I, induce AUTOFAGIA, protege a la célula para evitar muerte celular.
NS4B	Replicación ARN	Bloquea la señalización del INF-tipo I e interferencia ARN. modula liberación de gránulos de stress de la célula
NS5	Actividad de Metiltransferasa y guanililtransferasa: capping y síntesis de ARN. Polimerasa de ARN – dependiente de ARN	Bloquea la señalización tipo I mediada por INF.



Virus Zika: transmisión



LOCALIZACION	MOSQUITO (Reservorio natural)
AFRICA	<i>Ae. luteocephalus</i> , <i>Ae. africanus</i> , <i>Ae. furcifer</i> , <i>Ae. fowleri</i> , <i>Ae. Vittatus</i> Y <i>Ae. dalzieli</i>
SUR-ASIA PACIFICO AMERICA	<i>Ae. aegypti</i>
	VERTEBRADOS
NO HUMANOS Ambientes selváticos en Sureste de Asia	<i>Cercopithecus aethiops</i> y <i>Erythrocebus spp.</i> Roedores: <i>Taterillus spp.</i> , <i>Tetra indica</i> y <i>Meriones hurrianae</i> Orangutanos: <i>Pongo pygmaeus</i>



Virus Zika: transmisión

TIPO	Modo
VERTICAL	1. Aislamiento virus en liquido amniótico
	2. Aislamiento en placenta, cordón umbilical
	3. Tejido fetal (fallecidos)
SEXUAL	<i>TRES casos:</i> a. Dos casos de infección TS: Hombre a pareja b. Virus replicante activo en Semen (2-10 sem) después del inicio de la enfermedad

Foy BD, Kobylinski KC, Foy JLC, et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis* 2011;17:880–2. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1705.101939>.

Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg Infect Dis* 2015;21:359–61. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2102.141363>.



Virus Zika: evolución epidemiológica

18/04/1947: mono Rhensu (jaula) en la plataforma de un árbol, Bosque Zika, Uganda.. Proyecto Rockefeller-VFA

VZ aislado de *Aedes africanus*, bosque: mas de 150 especies
Seroprevalencia humana Positiva

1951-1981:

Otros países del Africa :Tanzania, Egipto, Africa Central Sierra eona, Gabon)

Asia: India, Malasia*, Filipinas, Tailandia, Vietnam*, Indonesia*

1956: transmisión Aedes-mono, 2 especies

1968: aislamiento Viral en humanos, Nigeria = 8 especies
1971-75: 40% Ac-neutralizantes VZ

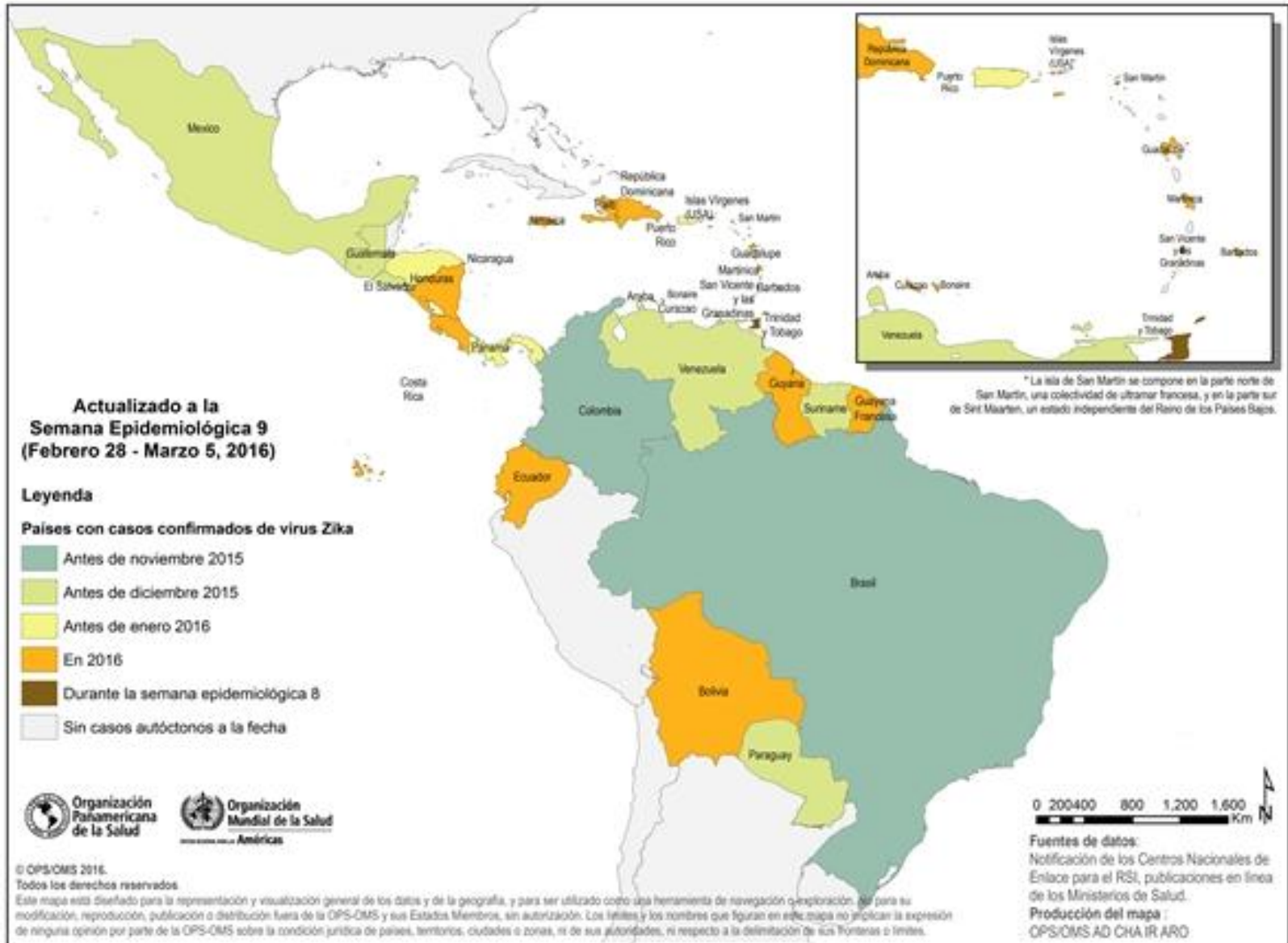


Virus Zika: Las Américas



- **Año 2013:** las islas del **Pacífico Sur**, Polinesia Francesa y en Nueva Caledonia (perteneciente a Nueva Zelanda), estimándose cerca de 28.000 casos en total (febrero 2014).
- **Febrero, 2014:** **Chile** confirmaron un caso de transmisión autóctona de infección por virus Zika en la isla de Pascua.
- **Mayo, 2015:** transmisión autóctona en **Brasil**. Hasta diciembre de 2015 un total de 18 estados confirmaron circulación autóctona del virus. Dic, 2015: 440,000 a 1.3 millones
- **Diciembre 2015:** , Brazil, Chile, Colombia, El Salvador, Guatemala, Mexico, Paraguay, Suriname, y Venezuela.

Países y territorios con casos confirmados de infección por virus Zika (transmisión autóctona), 2015-2016 (03/03/2016)





VIRUS ZIKA: ALERTA



- En la región de las Américas, las investigaciones preliminares han determinado una posible asociación entre la infección por virus Zika:
 - incremento de anomalías congénitas: Microcefalia y calcificaciones cerebrales
 - síndrome de Guillain Barré y otras manifestaciones autoinmunes



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Garcia G, et al. Long-term persistence of clinical symptoms in dengue-infected persons and its association with immunological disorders. Int J Infect Dis 2011

Simon O. Acute polyradiculoneuropathy and dengue fever infection. In: Presentation at Journee Scientifique de l'IPNC; 21 November 2013.



VIRUS ZIKA: EL embarazo



Countries and territories with confirmed cases of Zika virus (autochthonous transmission), 2014-2015 & Rates of microcephaly by state in Brazil, 2010-2014 and 2015



Updated as of Epidemiological Week 48 (Nov 29 - Dec 5, 2015)

Microcephaly rates by state in Brazil, 2015 (cases per 100,000 live births)

- 1
- 10
- 100

Microcephaly rates by state in Brazil, 2010-2014 (cases per 100,000 live births)

- 1
- 5
- 10

Countries with Zika confirmed cases

- in 2015
- in 2014
- Country limits
- Brazil state boundaries

Pernambuco

One case of autochthonous transmission of Zika virus infection in Easter Island, Chile, 2014. The presence of the virus was reported until June of the same year and was not detected later.

17/11/15: Lab Flavivirus del Instituto Osvaldo Cruz: amplifican ZikaV en el liquido amniótico de 2 embarazadas cuyos fetos tenían dx de microcefalia por ultrasonido
25/11/15, Polinesia francesa: incremento de síndromes polimalformativos cerebrales



Promedio de casos de Microcefalia por años=10.
Para Enero 2016: 3530 casos of microcefalia fue reportado Pernambuco. 46 fallecidos en 20 estados



Virus Zika: transmisión Madre-hijo.

Basado en evidencias

- Malformaciones neurológicas

- **Microcefalia:**

- 1 Diciembre 2015: Amplificación genoma viral del liquido amniótico, fetos con hidrocefalia (Ultrasonido)
- En tejido cerebral de recién nacido con microcefalia fallecido
- ICC/Fiocruz laboratory in Parana: Demostración del virus en sangre del cordón umbilical y placenta

- Malformaciones cerebrales: **calcificaciones**



Besnard M,etal, 2013. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, Euro Surveill 2014;19:13–6
Oliveira M., et.al. 2016. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? Ultrasound Obstet Gynecol 2016;47:6–7



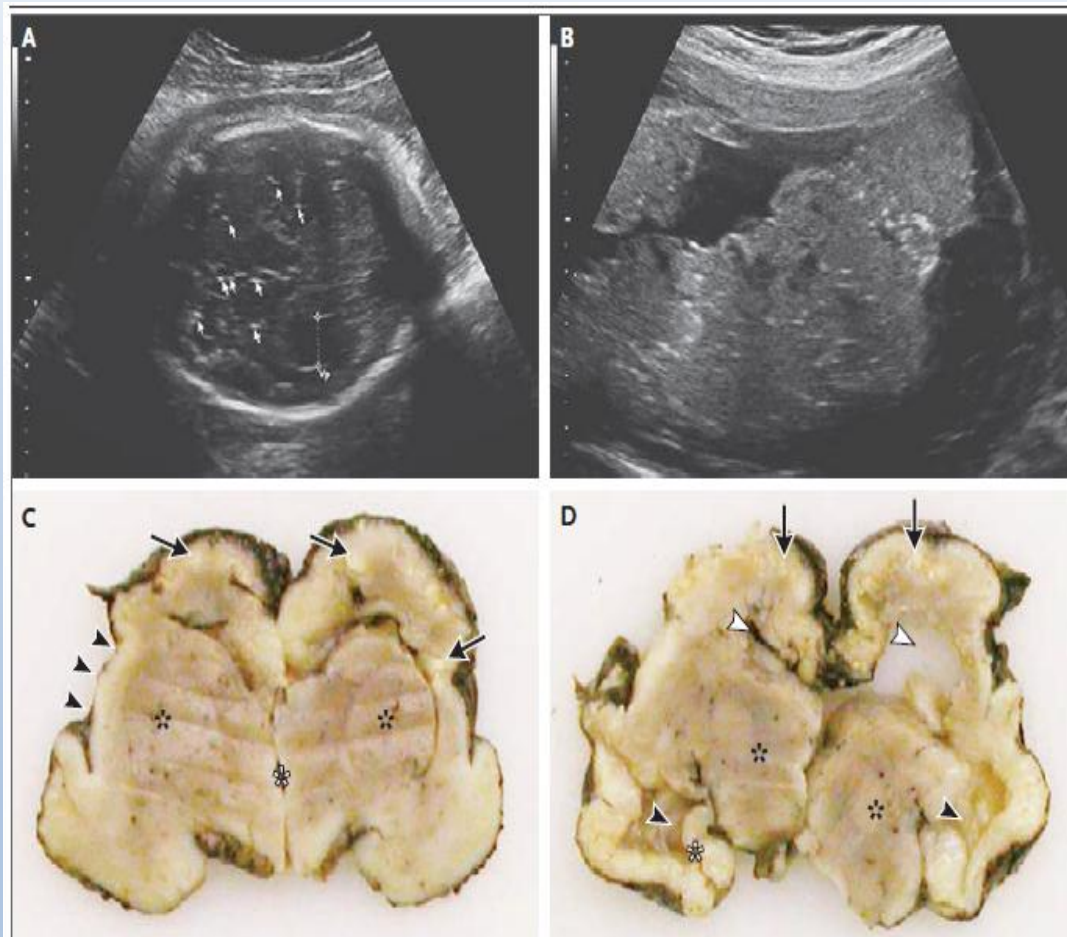
Virus Zika: Microcefalia

Panel A: calcificaciones múltiples (↑), region occipital dilatada, ventriculo lateral, Us transverso.

Panel B: calcificaciones numerosas en la placenta.

Panel C: calcificaciones en regiones cortical y subcortical (↑) y pérdida de la circunvoluciones cerebrales. Pobre desarrollo de ganglia basal (*), y fisura de silvio abiertas (▲)

Panel D: ventriculo lateral dilatado (▲); y el izquierdo colapsado. Region temporal del ventriculo lateral dilatada (▲). Talamo e hipocampo izquierdo bien desarrollado (*), sin embargo las estructuras contralaterales muestran autolisis.

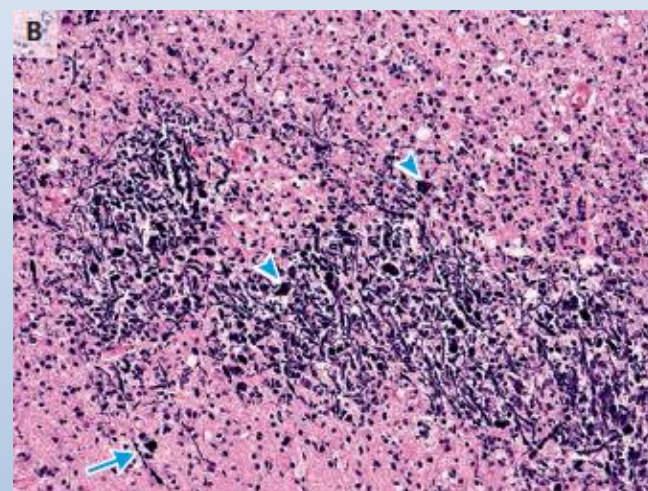
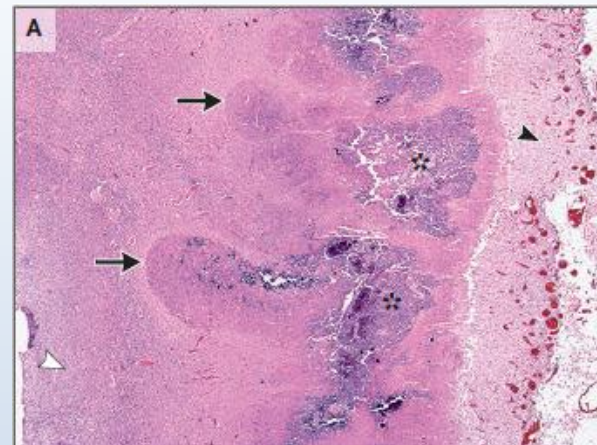




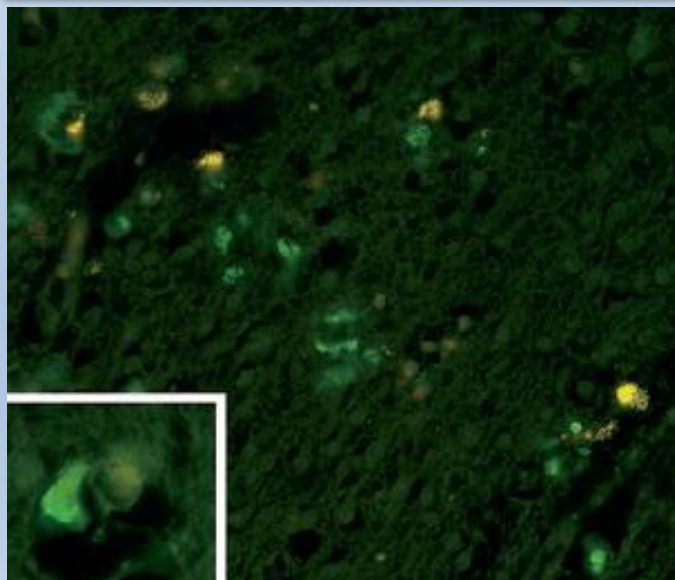
Virus Zika: Cambios histológicos en Microcefalia

Panel A: engrosamiento de leptomeninges (↓) y calcificaciones corticales y subcorticales (*), matrix germinativa preservada (↓); ausencia de circunvoluciones.

Panel B: calcificaciones con estructuras filamentosas (↓); daño axonal y dendritico (△)



Panel F: IFI de tejido cerebral, reacción intracitoplasmática granular (verde). Autofluorescencia de lipofuscina (amarillo) que corresponde a particular virales citoplasmáticas en las neuronas.

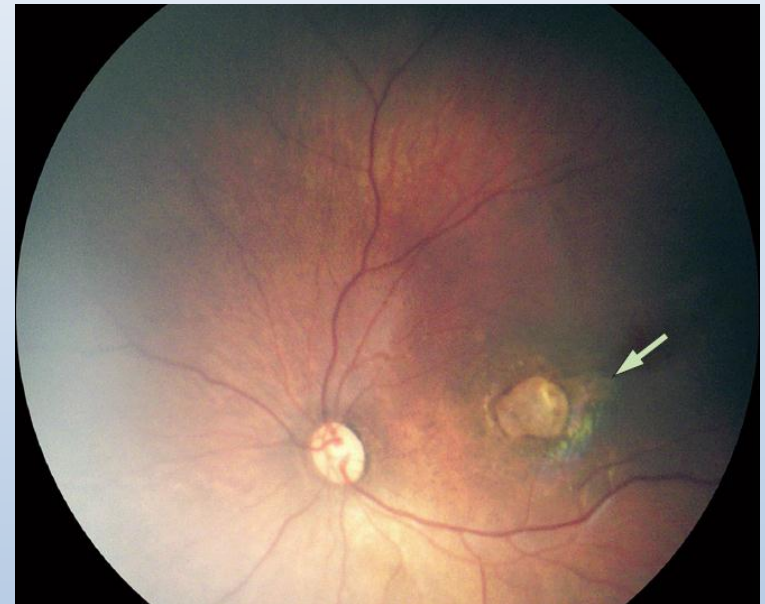




Virus Zika: Microcefalia y daños oculares



- Alteraciones maculares: pigmentación moteada irregular. Atrofia corioretinal y óptica (75.0%)
- Anormalidad nervio óptico: hipoplasia con signo de doble-anillo, palidez (discoloración). Incremento de la relación del disco óptico – copa (*cup-to-disk ratio*), índice de glaucoma (45.0%).



Retinitis pigmentosa y pérdida del reflejo foveal.



VIRUS ZIKA: síndromes neurológicos



- **Autoinmunes:**

- **Síndrome de Guillain-Barré:**

- 55% (42/76) han sido confirmados.
 - Solo el 62% (26/42) habrían tenido síntomas de infección por virus Zika (Brazil, 2015).

- **Otras:** púrpuras trombocitopénicas, complicaciones oftalmológicas y cardíacas, son poco frecuentes.

- **Otros Síndromes neurológicos:** Meningitis y encefalitis, en el 3,8% (5/76)

- Incremento de 20 veces de casos de GB;
 - asociado a infección secuencial de Virus Dengue



SINDROME DE GUILLAIN BARRE

- Polineuropatía periférica aguda, progresiva
- Tasa: 1-2 x 100.000 Hab
- Riesgo: >40 años. Mismo porcentaje por género
- **Cuatro subtipos**
 - Poliradiculoneuropatía inflamatoria, aguda, desmielinizante (**AIDP**): Linfocitos T autoreactivos
 - Neuropatía axonal motora aguda (**AMAN**): Ac contra gangliosidos (GM1, GD1)
 - Neuropatía axonal motora y sensitiva aguda (**AMSAN**): Ac contra gangliosidos (GM1, GD1)
 - Pandisautonomía aguda: Ac contra gangliósidos (GQ1b, GT1a)

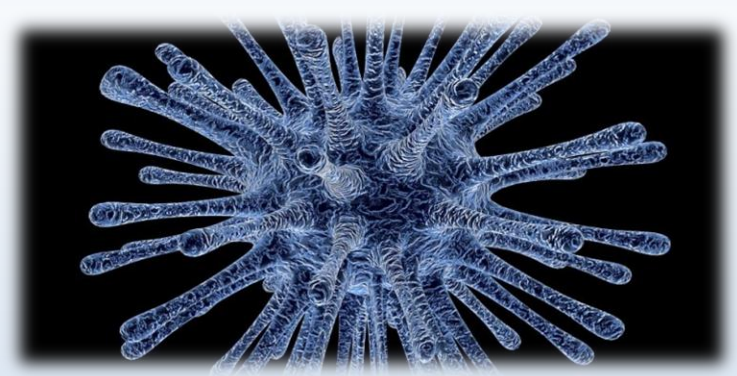




SINDROME DE GUILLAIN BARRÉ: Etiología



- **Linfocitos T y anticuerpos autoreactivos**
- **Post-infecciosa:**
 - Varios agentes virales: Coronavirus, VEB, Virus Influenza, Herpes Zoster, Virus Zika
 - Post-vacunales: Virus Influenza
 - infección por *Campylobacter* (Miller-Fisher)
- **Infiltrativas:** linfocitos y macrófagos, median desmielinización
 - Ambas respuestas están activadas
 - Circulación de anticuerpos anti-gangliósido y anti-glicolípidos
 - Macrófagos activados desmielinizantes



VIRUS ZIKA

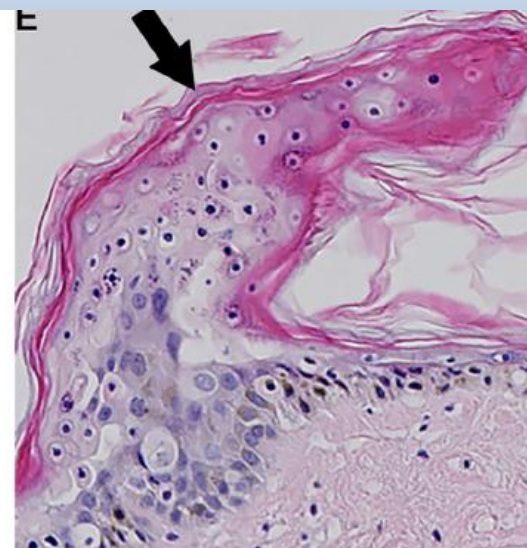
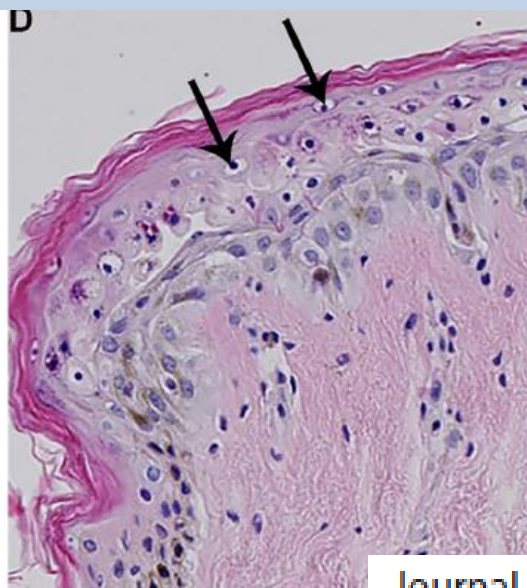
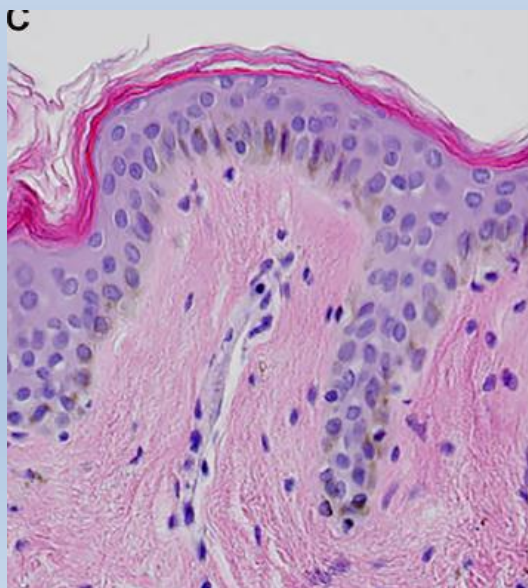
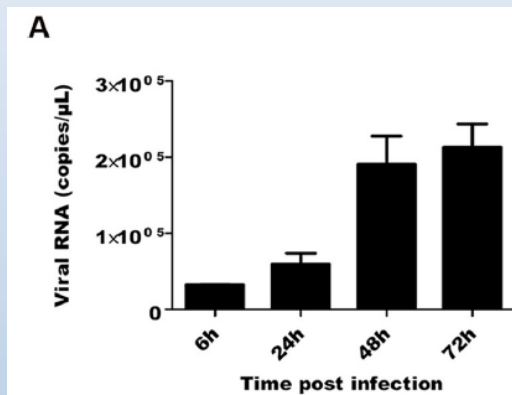
FISIOPATOGENIA



Virus Zika: Histología lesión cutánea



Keratinocitos humanos infectados (piel de frente neonatos) y cambios en la estructura de la piel





Virus Zika. ME – invasión intracelular dérmica

Fibroblastos primarios

(A). Vesículas de membrane:

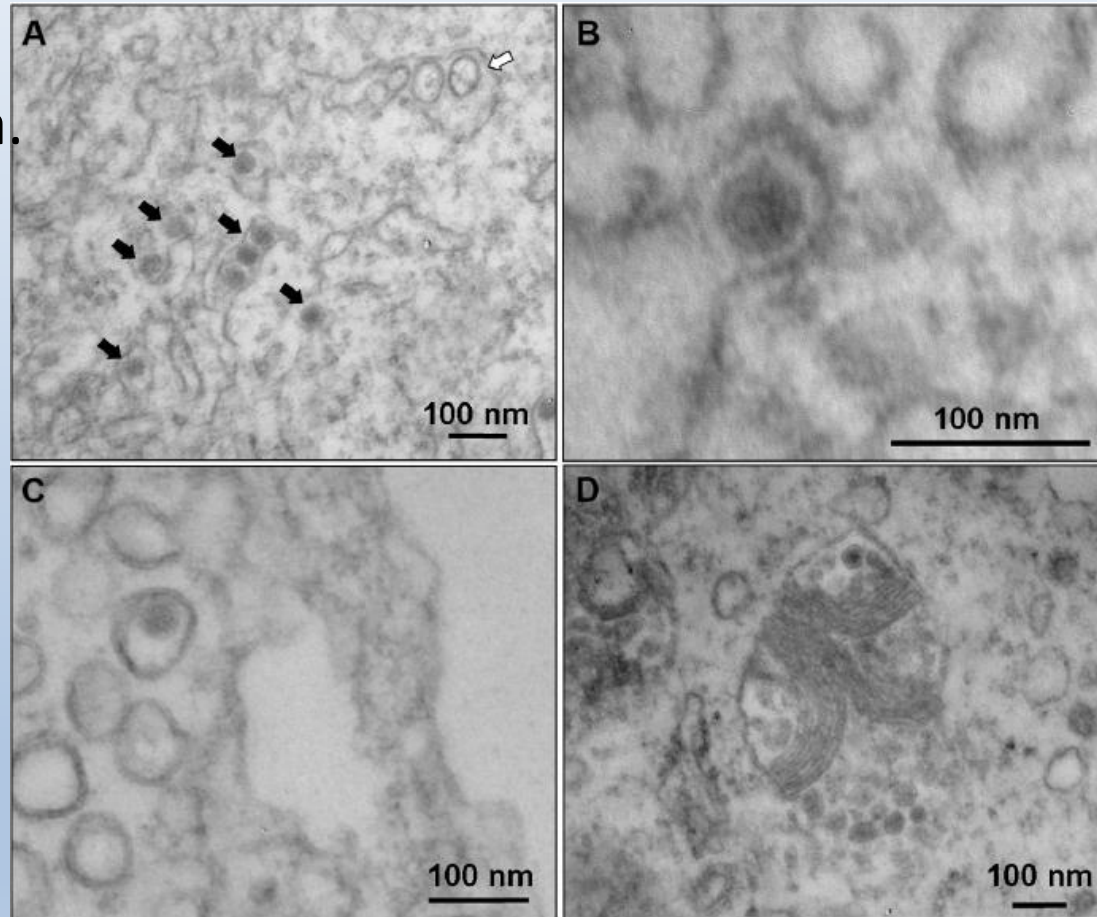
70-100 nm, asociadas al RE.

(B) Partícula ZIKV agrandada.

Capside electrodensa esférica de 40 nm de diámetro.

(C) Capside ensamblada: transportada a la superficie celular en vacuolas intracitoplasmáticas.

(D) Autofagosomas son frecuentemente detectados en células infectadas, la cápside se observa en este compartimiento





Virus Zika: microscopia electrónica de capa fina cerebral fetal con microcefalia

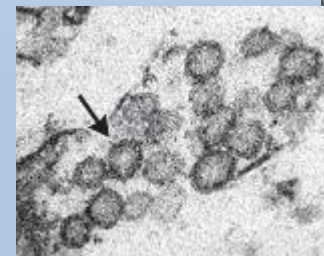
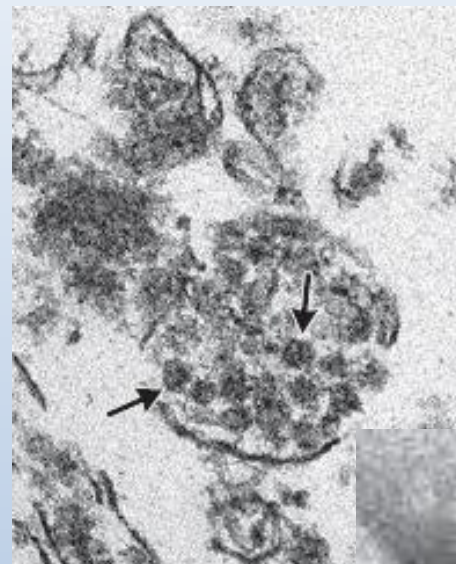


Daño cerebral:

- acumulos de viriones localizados en reticulo endoplasmico (RE) dañado
- restos de membranas derivadas de diversos compartimientos celulares

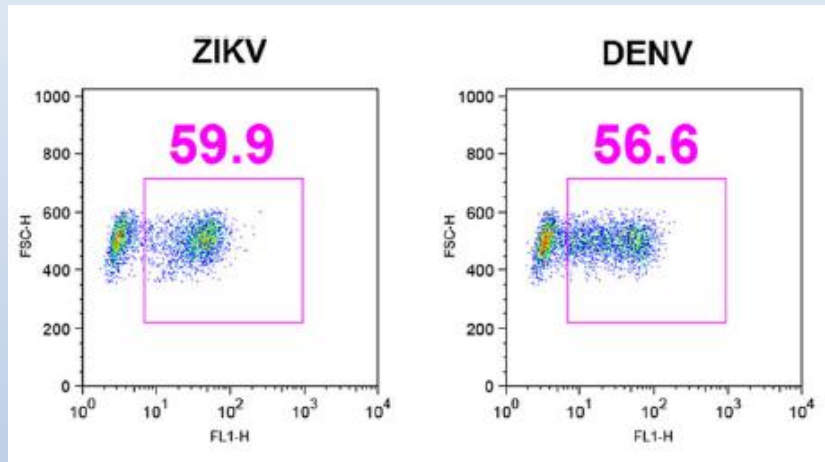
Actividad viral multiplicativa:

- Cluster de viriones, fase multiplicativa
- Partículas virales ensambladas en RE

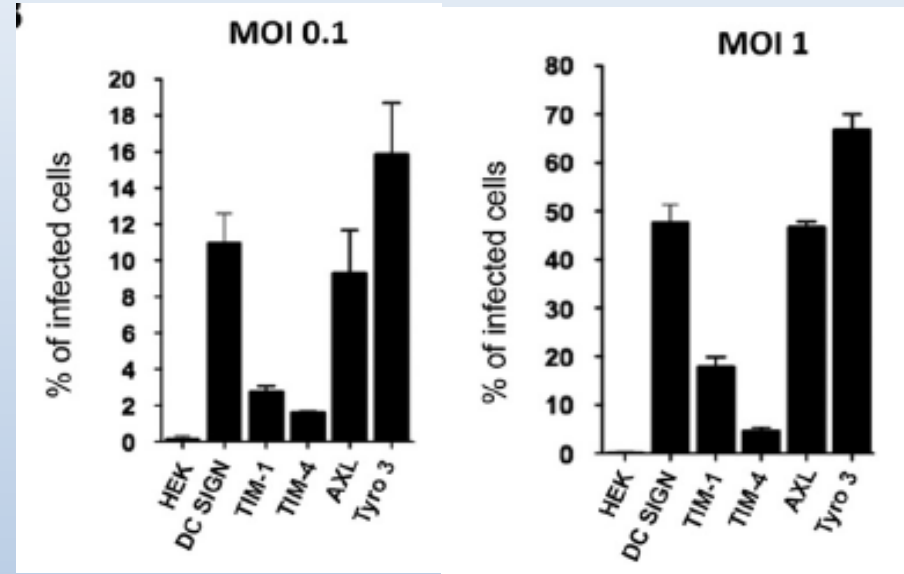




Virus Zika: receptores celulares



Células dendríticas cutáneas



Células HEK293T

ZIKV media su entrada a células a través de varios

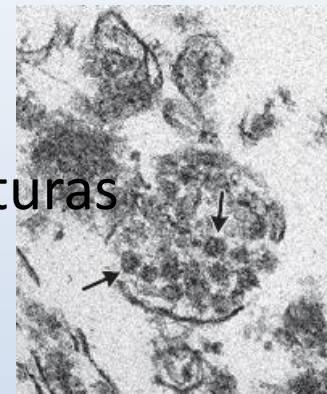
receptores: DC-SIGN, AXL, Tyro3, y en menos extensión TIM-1 (que contribuye a la eficacia de AXL de mediar entrada).



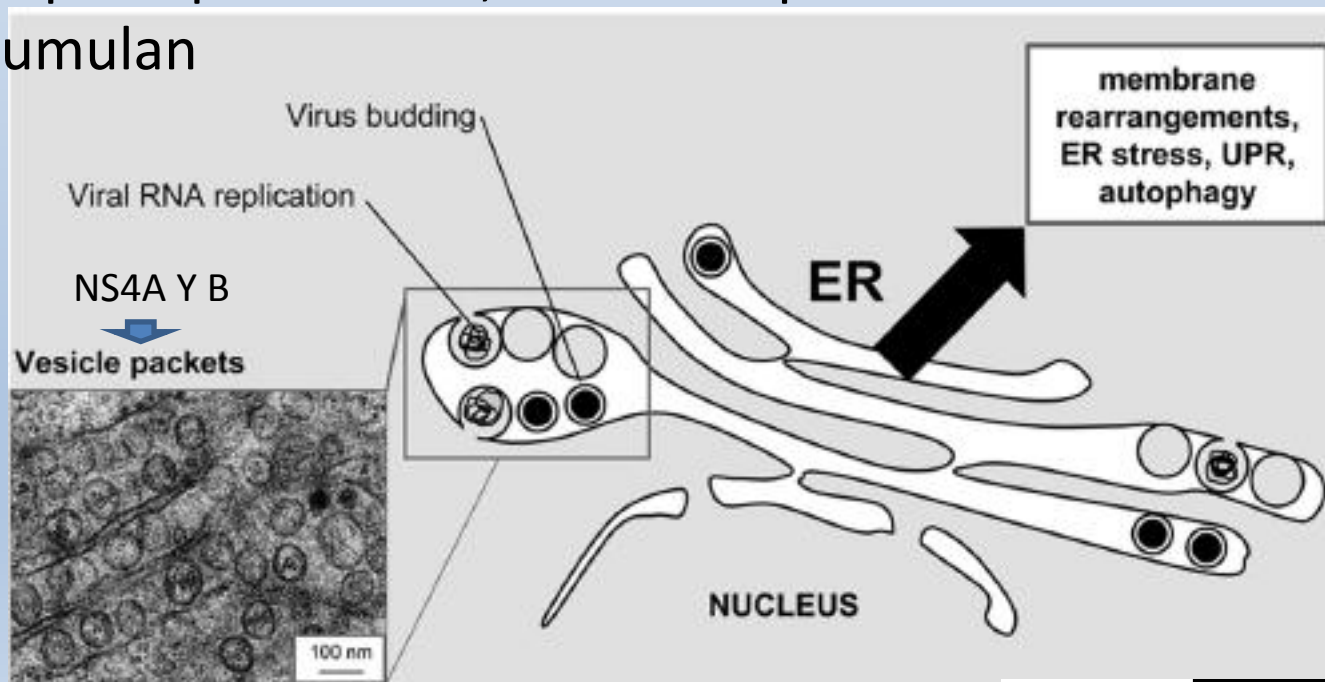
Virus Zika: alteración arquitectura del retículo endoplásmico (RE)



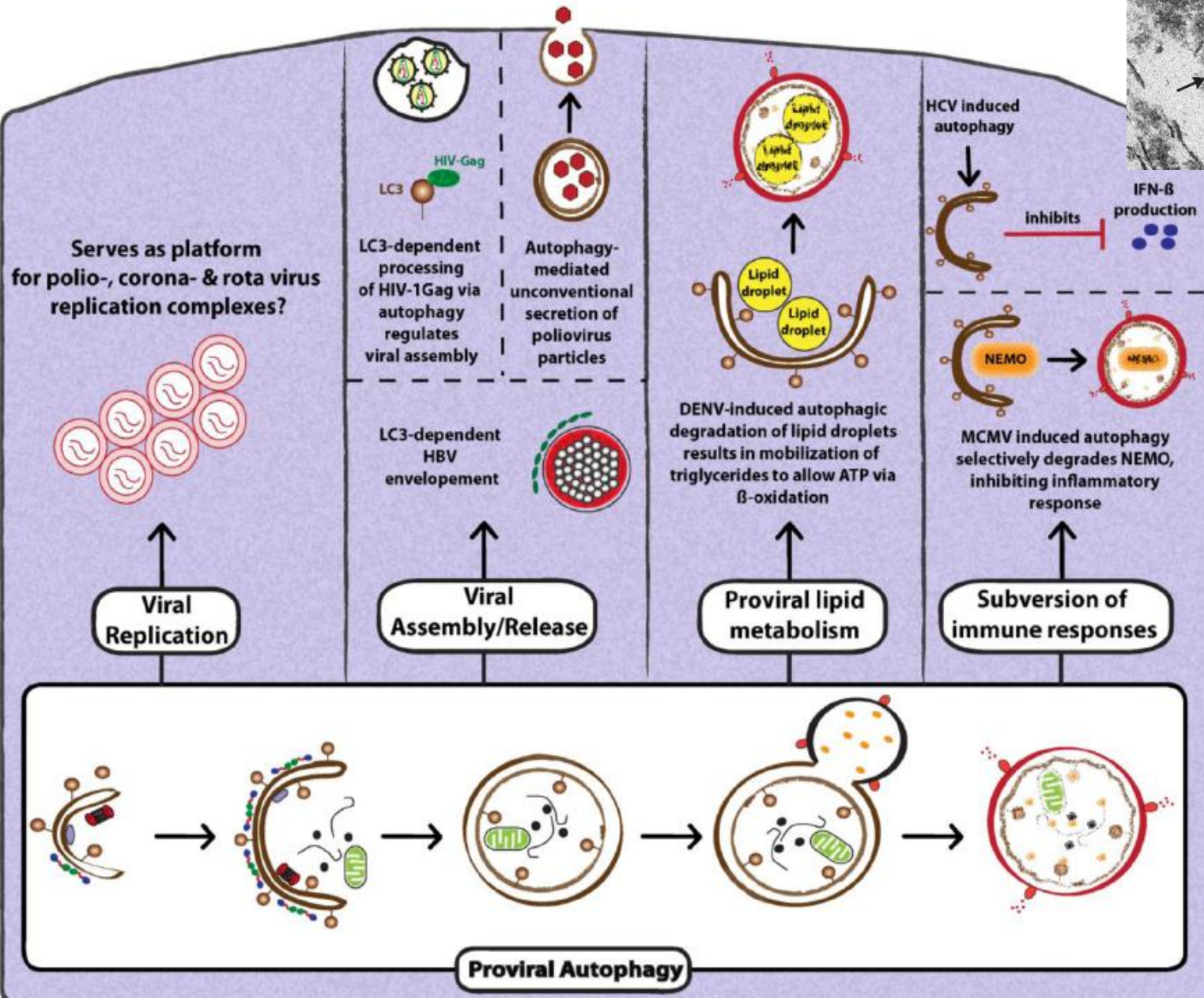
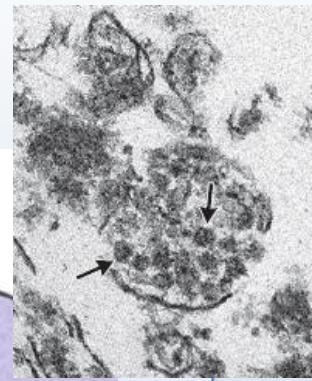
La replicación de Flavivirus ocurre en asociación con estructuras membranosas intracelulares. Re-arregla la membrana construyendo estructuras tipo organelas, que utiliza para la replicación .



La fuente principal es el RE, donde las proteínas estructurales y NS se acumulan



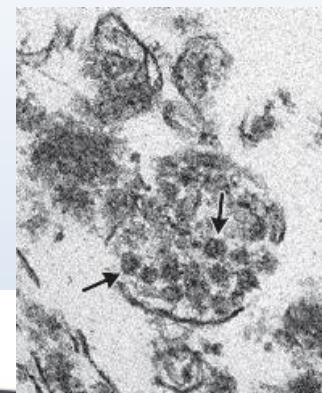
Autofagosomas: mecanismo pro-viral



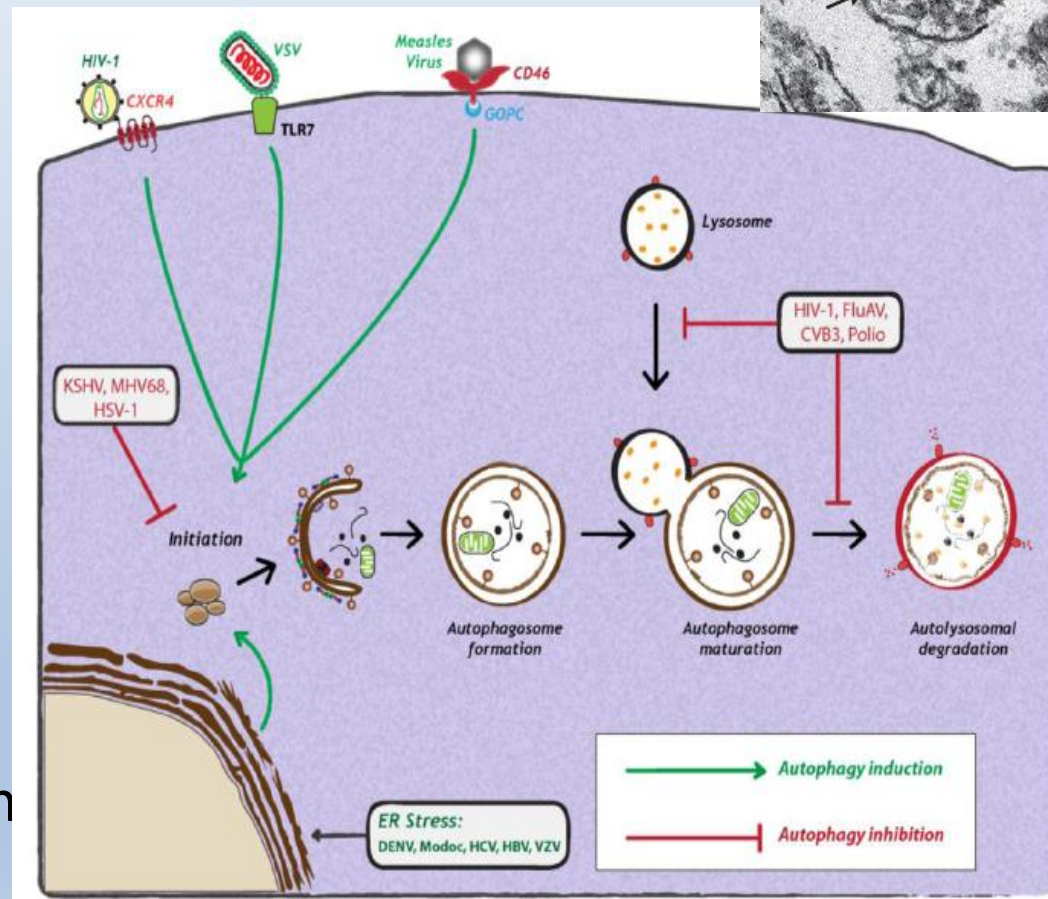


Flavivirus y Autofagia

Inducción respuesta autofágica de la célula infectada.



- **Dengue:** reorganiza la membrana celular para formar **autofagosomas**, los cuales se fusionan con endosomas, formando **amfisosomas**.
- **Flavivirus Incluye ZIKV:** activan la respuesta de proteínas no-dobladas (UPR), involucradas en autofagia.
- Asociado a neurovirulencia en cepas de *Flavivirus* (JEV strains).

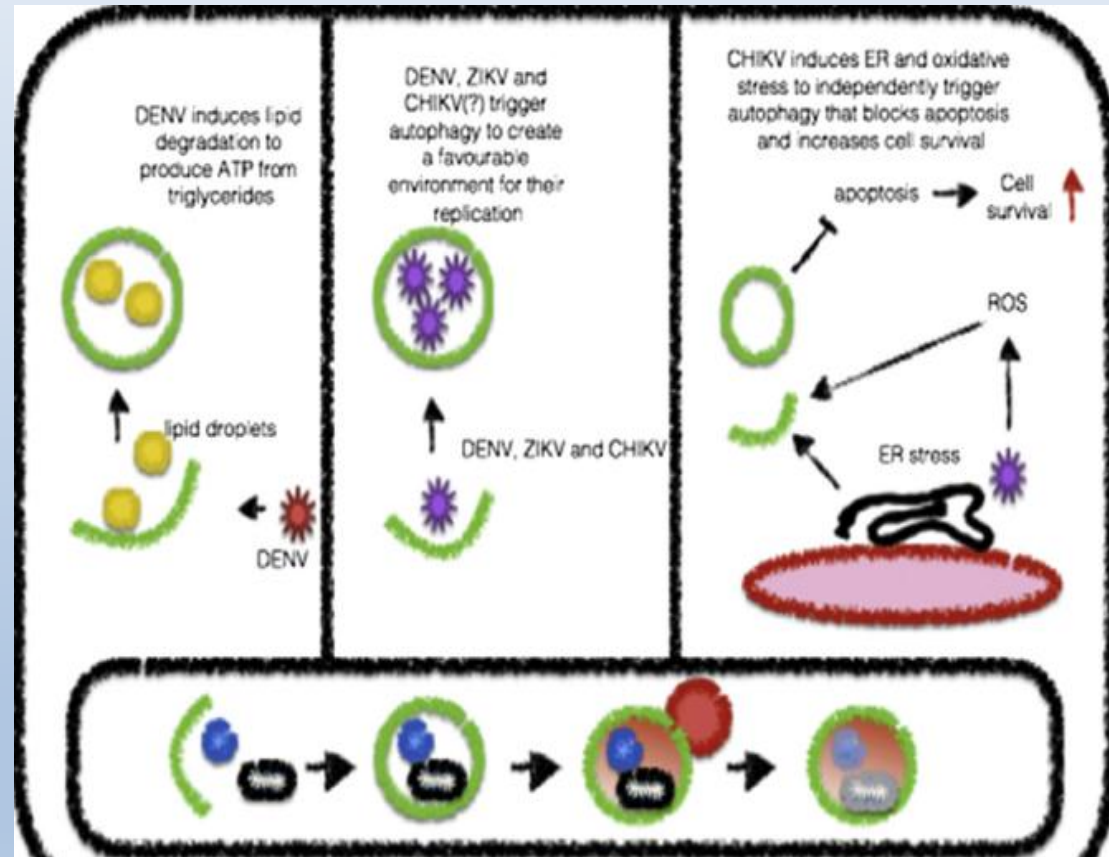




Virus Dengue, Zika y CHIKV: Autofagia



- **DENV:** depende de la degradación de lipidos para mobilizar TCG y producir ATP via β -oxidación, secuestrando el metabolism celular para su propia replicación
- **DENV, ZIKV y CHIKV** incrementan autofagia para facilitar replicación
- **CHIKV:** induce al RE y stress oxidativo, que independientemente, incrementa autofagia para bloquear apoptosis y promover sobrevivencia celular.



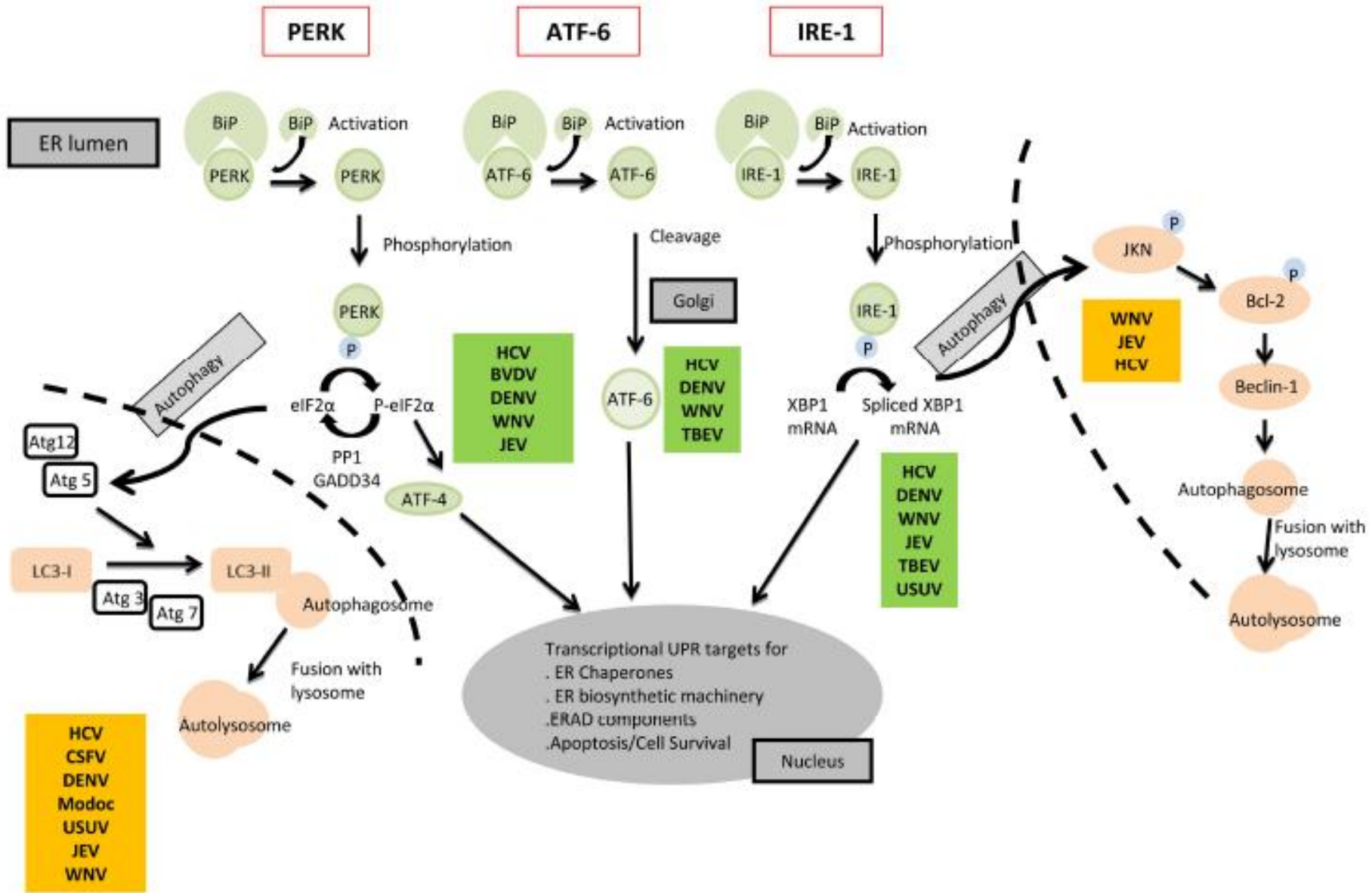
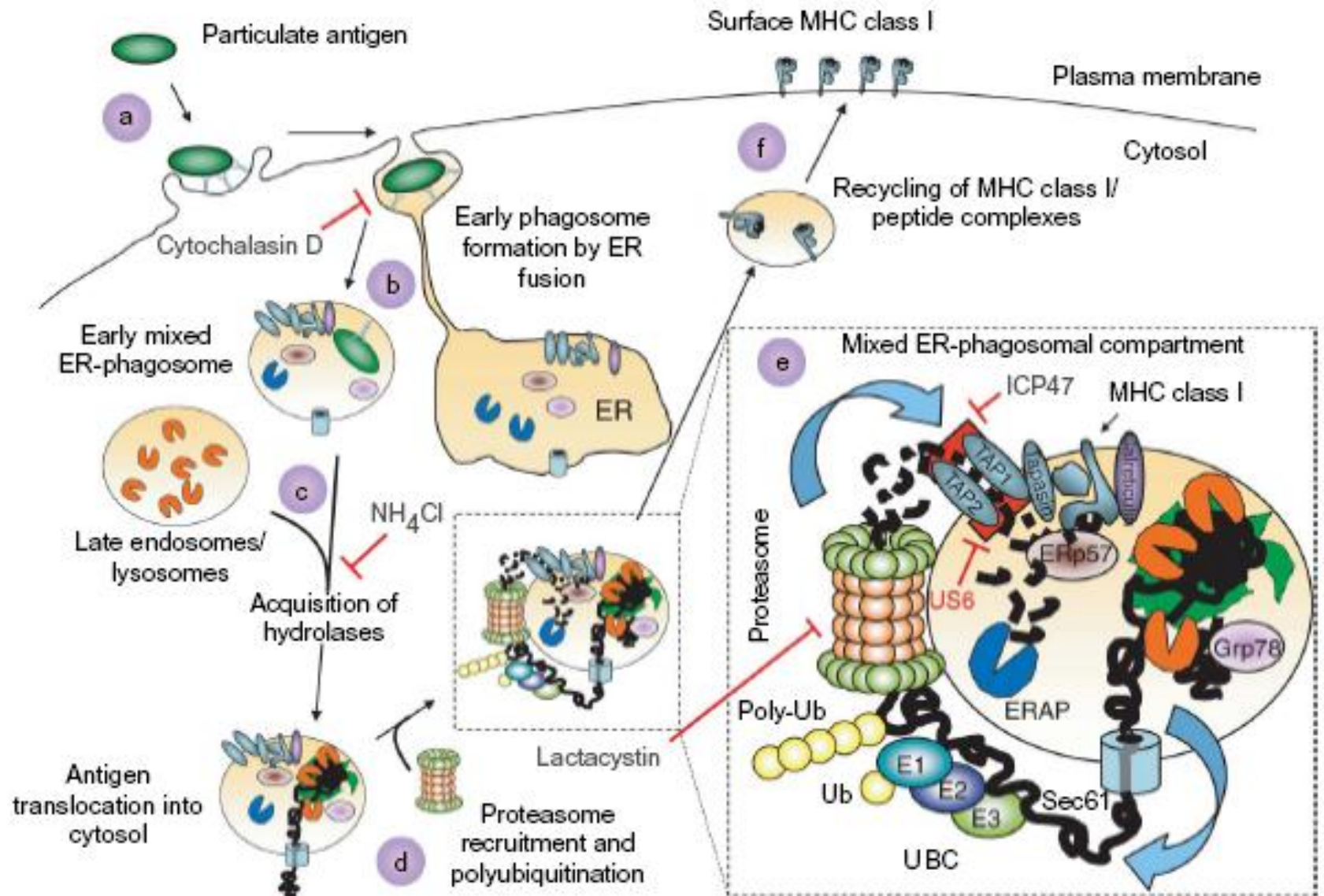


FIGURE 2 | Cell signaling pathways of the UPR, autophagy connections and flaviviruses. The three arms of UPR (PERK, ATF-6, IRE-1) are shown in the figure. The viruses from the *Flaviviridae* family whose infection has been related to each process have been noted in the figure. See the text for details.

Fagocitosis mediada por el Reticulo Endoplásmico (ER) y presentación cruzada en el fagosoma





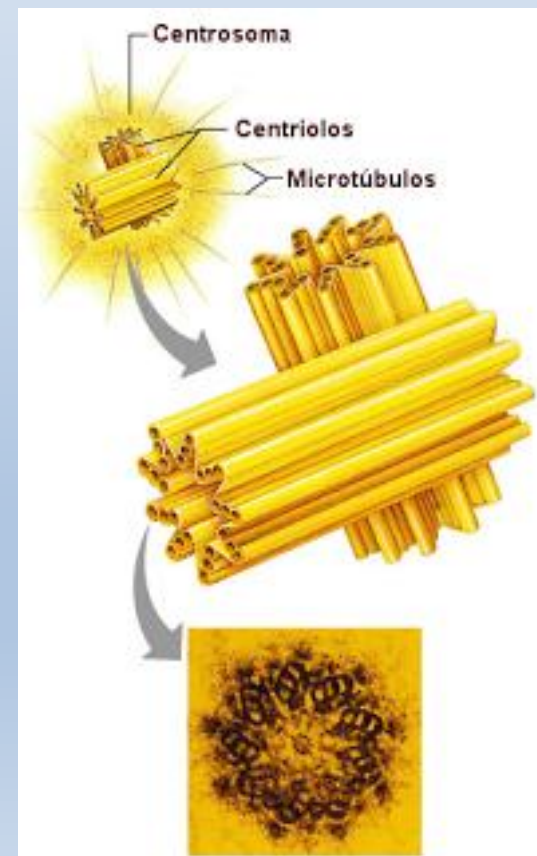
Virus Zika: Centrosomas y Microcefalia

Durante la interfase del ciclo celular, los microtúbulos determinan la forma celular, la polaridad y la motilidad.

Durante la mitosis: forman el huso mitótico, necesario para la segregación de los cromosomas entre las dos células hijas

Anomalías en **función centrosomas**: (mitosis, migración de vesículas polarización y tráfico)

- Se ha demostrado que el aumento de número de centrosomas se ha asociado a microcefalia. Ese aumento causa retraso en la mitosis e incremento de la apoptosis.
- Virus Zika: tiene un papel en el desarrollo de centrosomas



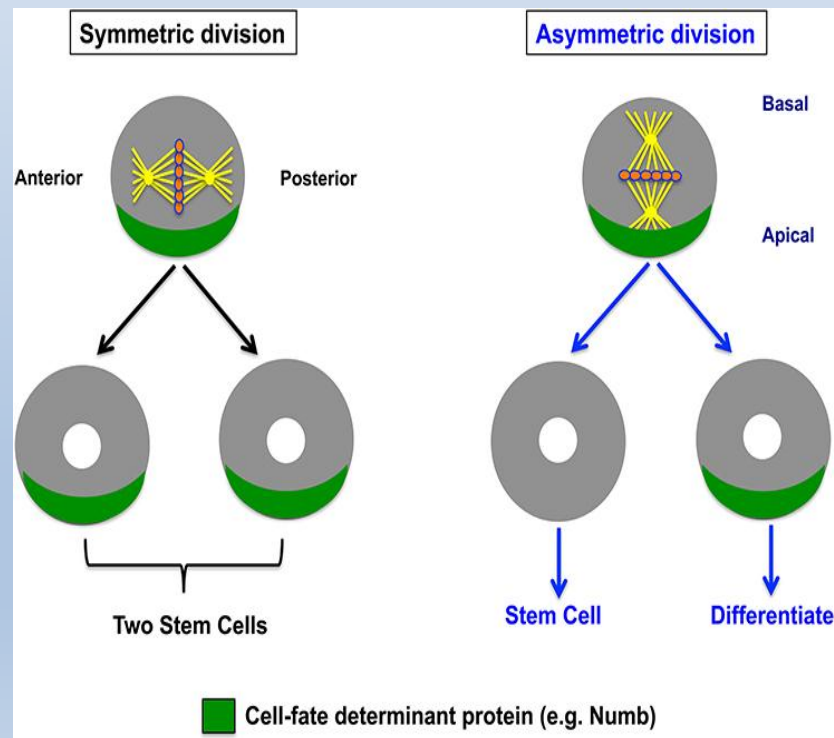


Microcefalia, división de células madres y centrosomas

Durante la microcefalia, desbalance entre las divisiones predominando la asimétrica. Que determina cuál división deberá ocurrir?: el alineamiento de los Centrosomas alrededor de la células.

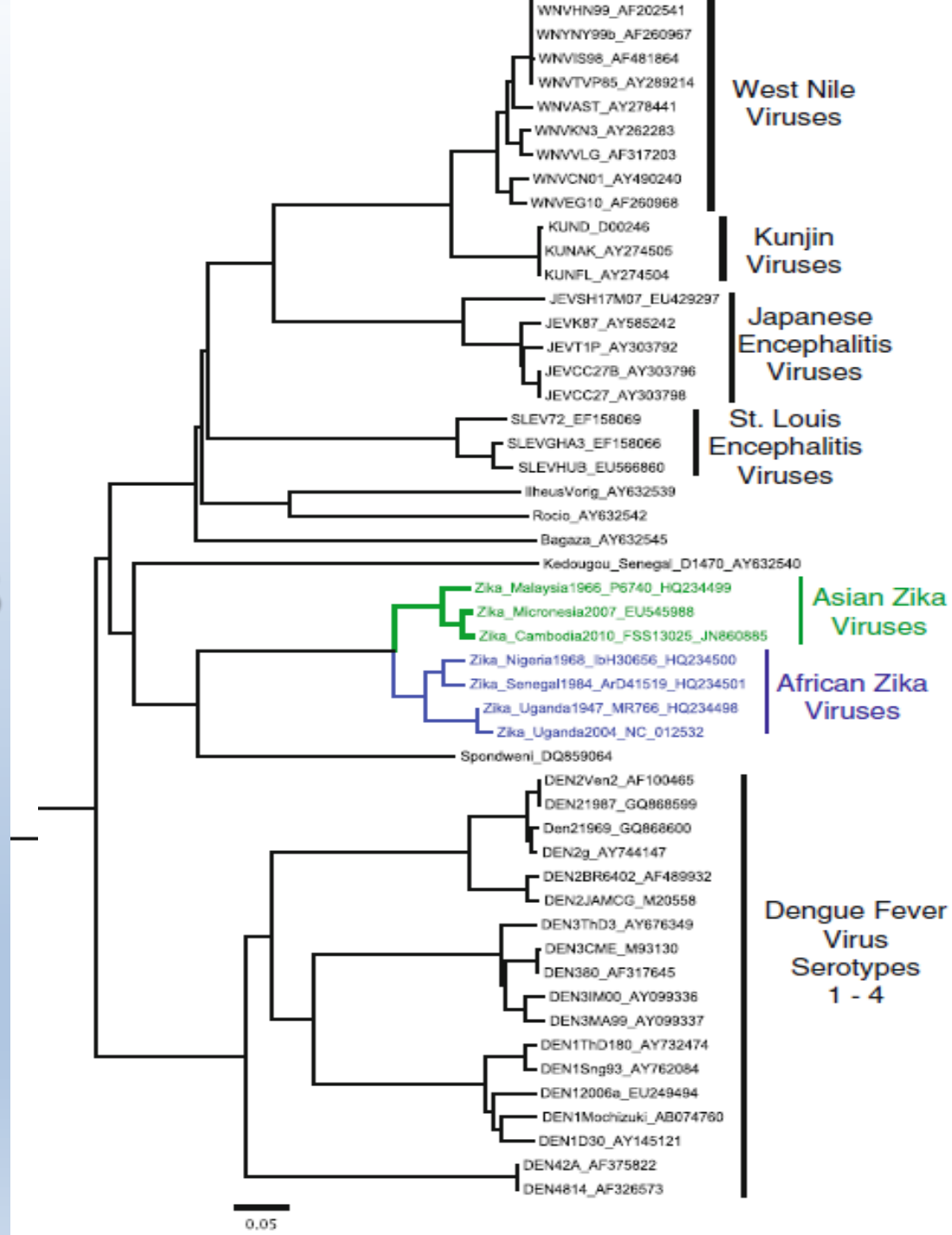
El alineamiento depende de factores, incluyendo aquellos involucrados en autofagia.

- El mecanismo que utiliza ZIKAV para secuestrar la autofagia, interfiere de un modo con la división celular en las células madres neurales
- Por tanto si ZIKAV infecta en la fase de embriogenesis, las células madres neurales pueden estar realizando múltiples divisiones asimétricas, que dejen como consecuencia pocas neuronas y microcefalia.





Virus Zika: Relaciones filogenicas otros *Flavivirus*

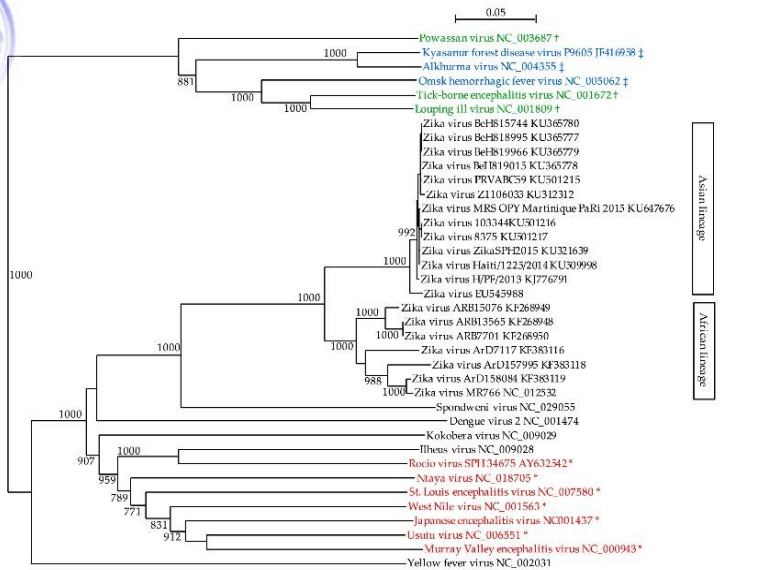




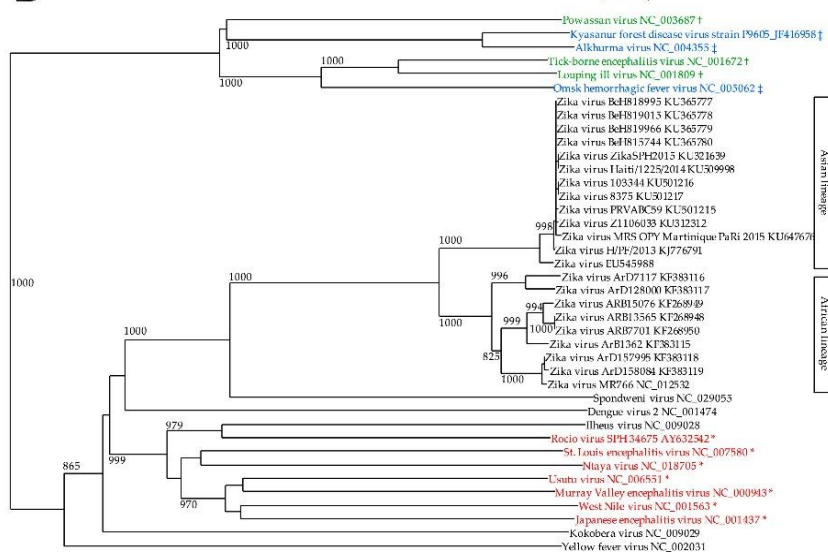
VIRUS ZIKA: Relaciones filogenéticas



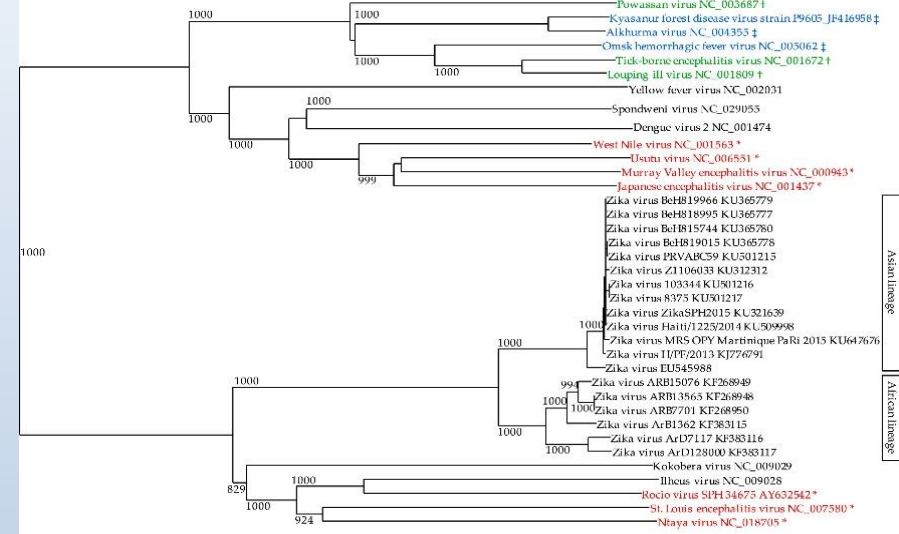
A Región de envoltura (E)



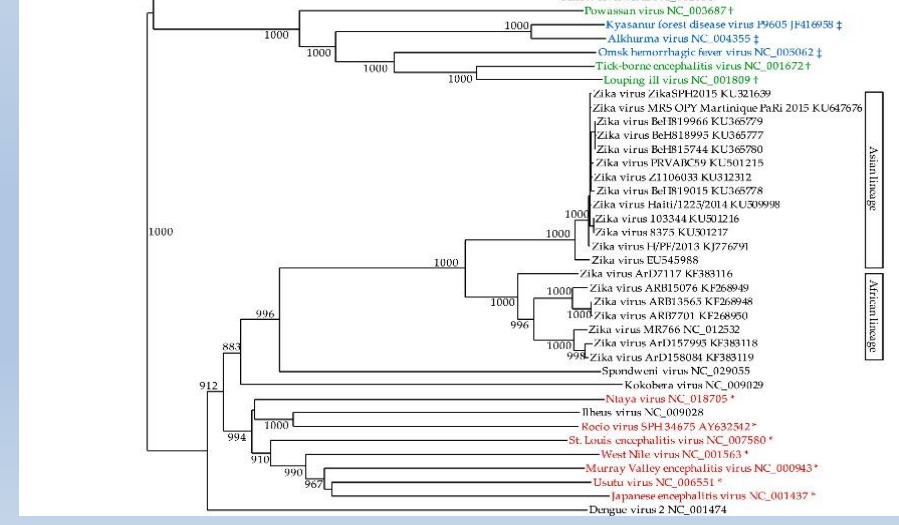
B Región NS1



C Región NS3



D Región NS5





VIRUS ZIKA: Evolución genoma

- Los árboles filogenéticos basados en NS5, y las secuencias de las proteínas E muestran una clara agrupación de los virus transmitidos por mosquitos de aquellos transmitidos por pulgas.
- Los virus que causan infección del SNC también se agrupan juntos
- A pesar de que el ZIKAV puede ser potencialmente neuropatogénico, al menos en el SNC-inmaduro, NO SE RELACIONA con virus causantes de otras encefalopatías.
- Las cepas *Yap-2007* y *Senegal-1984* difieren de su prototipo, la cepa *Uganda*, ya que esta última tiene una delección de cuatro aminoácidos en la **Proteína E**.
- La Microcefalia no ha sido reportada previamente en África, donde la enfermedad es endémica.

Virus Zika: patogénesis en las Américas

- La presencia de múltiples virus relacionados en las mismas áreas geográficas, con radios variables de patogenicidad, más que el problema diagnóstico que genera, es el problema inmunidad y patogénesis:
 - Reacción cruzada de anticuerpos
 - Incremento de la infección mediada por anticuerpos
 - Efecto aditivo de la vacunación



VIRUS ZIKA

MANIFESTACIONES CLINICAS



VIRUS ZIKA: manifestaciones clínicas

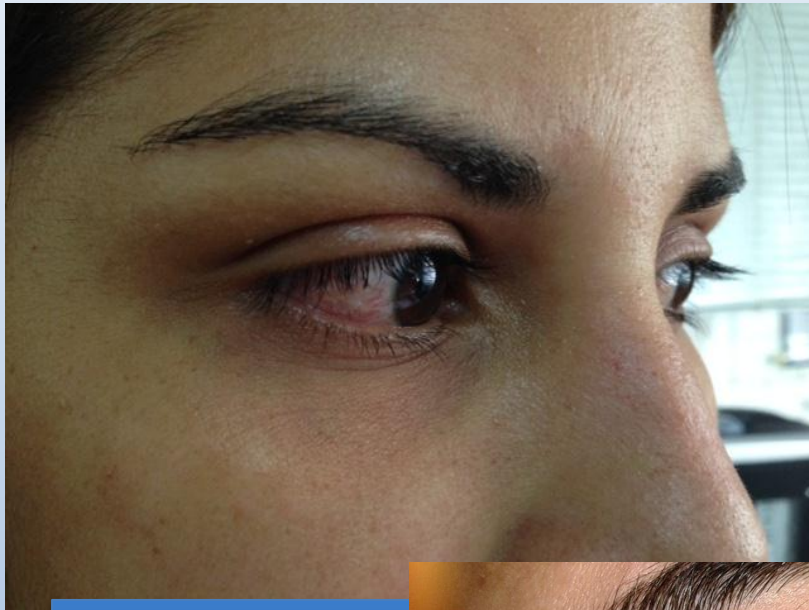


- **Incubación:** aproximadamente 8 días o mas
- **Asintomáticos:** Regiones endémicas (Africa)
- **Sintomáticos:**
 - **AGUDA (1-3d, Virémica):** escalofrío, fiebre alta, dolor retrocular. Exantema (principalmente maculopapular), fiebre, artritis (artralgia) y conjunctivitis
 - **Entre DÍA 3-5:** cefalea, malestar y pirexia.
 - **Para el DIA 7:** disminución de la fiebre y mejoría de condiciones generales.

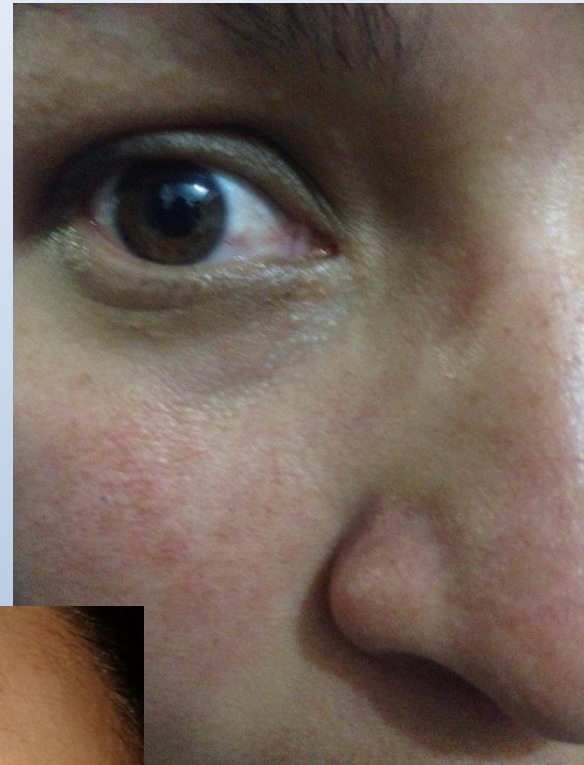


VIRUS ZIKA: manifestaciones conjuntivales

Mérida, Venezuela. 2016



Paciente YM 27/0



Paciente AV 20/02/16





VIRUS ZIKA: manifestaciones cutáneas



Paciente AV 20/02/16



Paciente MC
25/01/2016



Síntomas	Dengue	Chikungunya	Zika
Fiebre	++++	+++	+++
Mialgia/artralgia	+++	++++	++
Edema de extremidades	0 (6to d: ++)	0 (+++)	++
Rash maculopapular	++	++	+++
Dolor retro-orbital	++	+	++
Conjuntivitis	0	+	+++
Linfadenopatías	++	++	+
Hepatomegalia	0 (+++ Signo alarma)	+++ (+)	0
Leucopenia/trombocitopenia	+++	+++	0
Hemorragias	+	0	0



Co-infección: DV3+Zika. Polinesia Francesa, niño 14 años y mujer de 38 años de edad



VIRUS ZIKA: Dx Diferenciales

RUBEOLA



TIPO	ENFERMEDAD
VIRALES	Dengue, Chikungunya. Otros: Mayaro, Rubeola, Sarampión, Parvovirus, enterovirus
BATERIANAS	Rickettsias, Leptospira
PARASITARIO	Malaria
Otras	Meningitis, artritis post-infecciosa

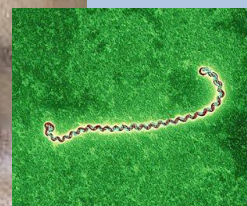


Symptoms of Malaria

- CENTRAL**
 - Headache
- SYSTEMIC**
 - Fever
- MUSCULAR**
 - Fatigue
 - Pain
- BACK**
 - Pain
- SKIN**
 - Chills
 - Sweating
- RESPIRATORY**
 - Dry cough
- SPLEEN**
 - Enlargement
- STOMACH**
 - Nausea
 - Vomiting



LEPTOSPIRA



RICKETTSIA



Virus Zika: Microcefalia (OMS)

- Incluye un grupo de malformaciones congénitas, defectos y aberraciones cromosómicas (ICD-10, code Q02), en el que la circunferencia occipitofrontal cefálica del RN vivo a término, es inferior (<percentil 3er, 2-DE), a lo correspondiente por edad gestacional y género
- En algunos casos se asocia con cambios en la estructura cerebral y retraso en el desarrollo neurológico

CUT-OFF	HEMBRAS (cm)	VARONES (cm)
-2DE	31,5	31,9
3ER PERCENTIL	31,6	32,0

Medidas para RN a término (37sem o mas), nacimiento, confirmado a las 24 hrs

Para RN <37sem gestación: curvas de Fenton



Virus Zika: Caso de Microcefalia

Recién nacido vivo (ajustado por edad y género)

SOSPECHOSO

- EG < 37sem, con CC < P3 en la curva de Fenton
- EG > 37sem, con CC < P3, basados en las tablas OMS

CONFIRMADO

- Cualquier edad gestacional, clasificado como caso sospechoso de microcefalia asociada a Zika, **con:**
- pruebas específicas POSITIVAS (en RN o Madre)
- Ó con cambios morfológicos intracraneales (ultrasonido), sin evidencia de otra causa posible de microcefalia.

DESCARTADO

- Cualquier edad gestacional, clasificado como caso sospechoso de microcefalia, con confirmación de causa-específica, infecciosa o no, diferente a virus Zika (en Rn ó Madre)

EG: edad gestacional, CC: circunsferencia cefálica; P3: Percentil 3



SINDROME DE GUILLAIN BARRÉ: Clínica



• CLINICA:

- Debilidad (90%), areflexia (75%-100%)
- Neuropatía progresiva (días a semanas):
 - Parestesia (75%): simétricas, parálisis flácida. Inicio distal, pies (60%), manos (20%), facial (35-60%), orofaríngeo (25%)
 - Falla respiratoria debido a parálisis diafragma: 10-30%
- Otros síntomas: pérdida sensoriales, asimetría, disfunción de movimiento intestinal y vesical

• PRONÓSTICO:

- Recuperación 2-4 sem.; 70% recuperación completa.
- 30%: neuropatía periférica



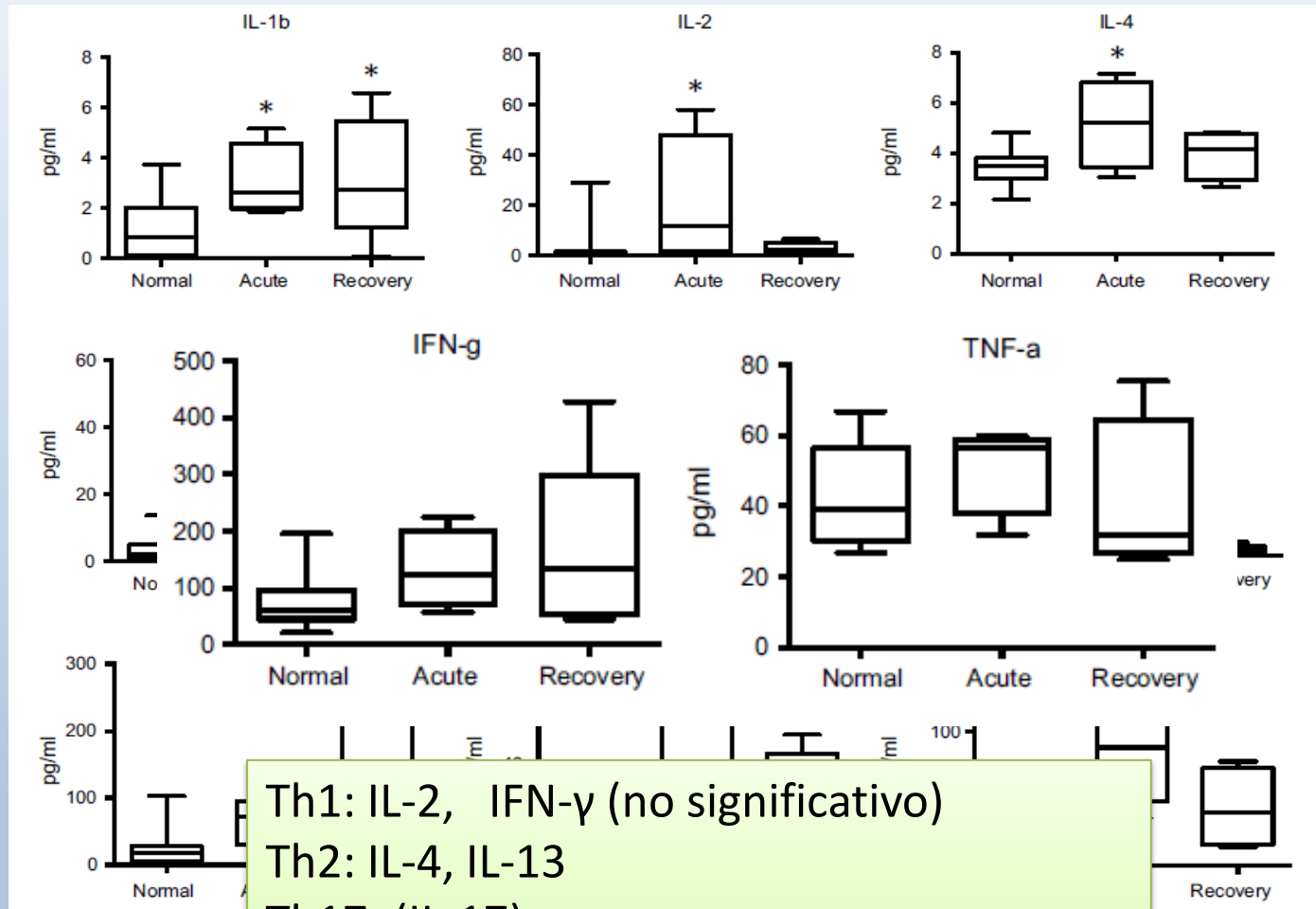


Virus Zika: inmunorespuesta



FASE AGUDA:
Incremento
quemoquinas
predomina sobre
las citokinas
proinflamatorias

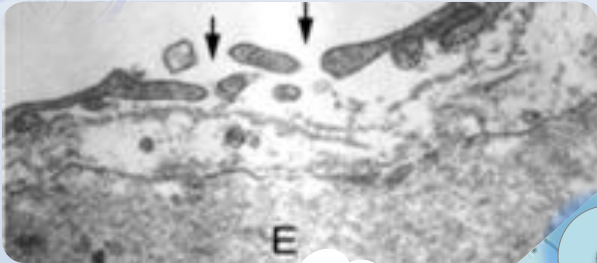
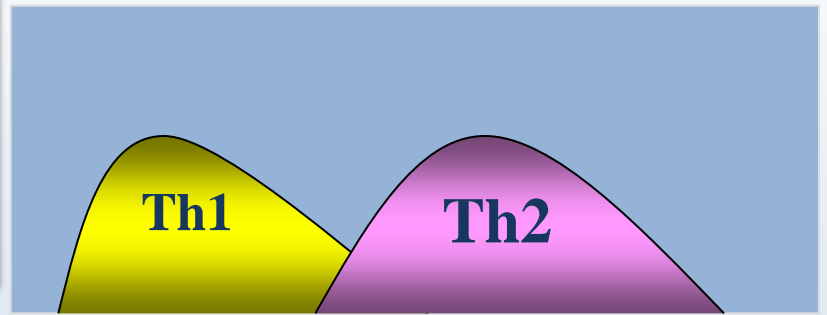
FASE
RECUPERACION:
descenso de
citokinas



Th1: IL-2, IFN- γ (no significativo)
Th2: IL-4, IL-13
Th17: (IL-17),
th9 (IL-9) responses.



DISFUNCION ENDOTELIAL EN EL DENGUE GRAVE

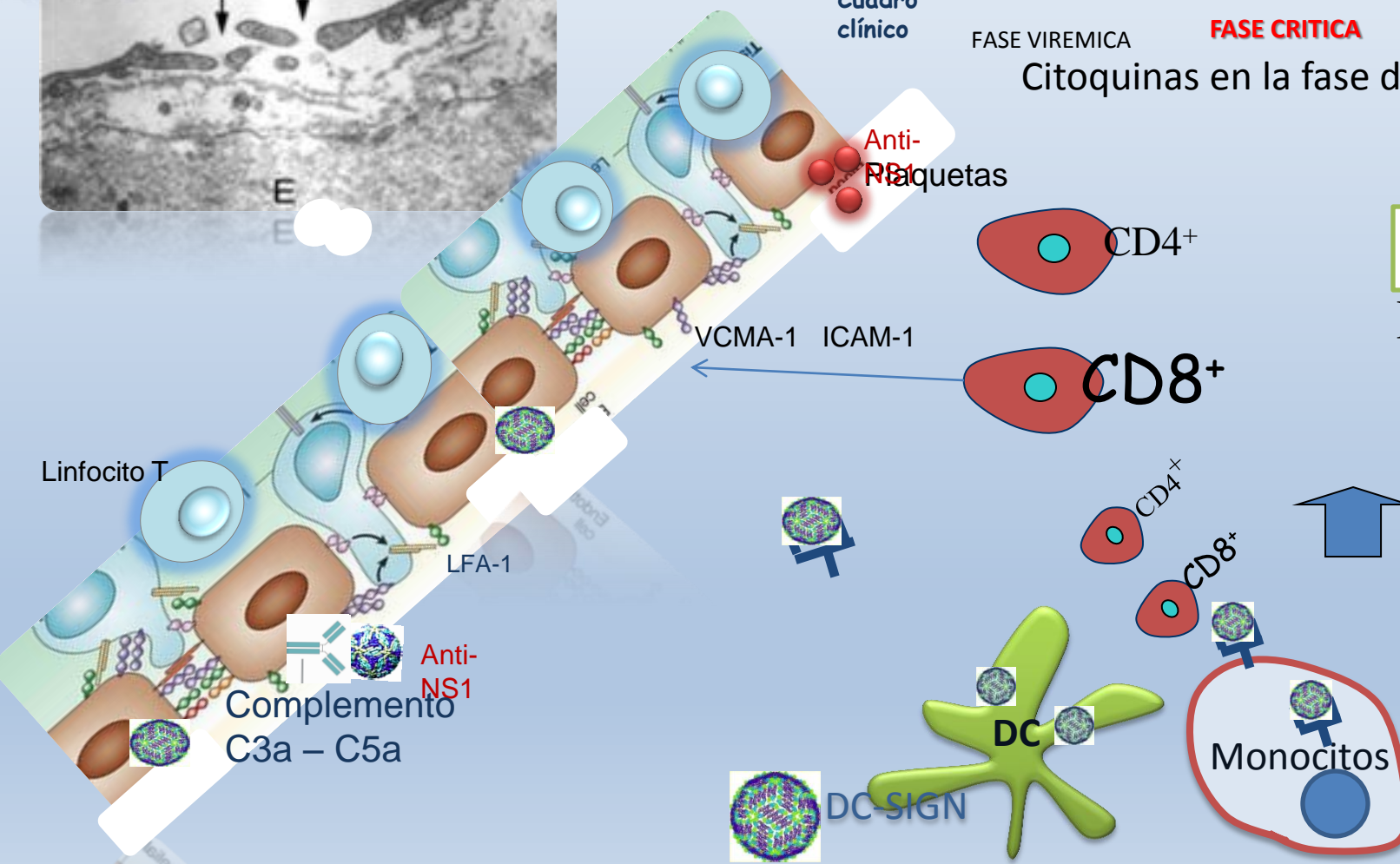


Días del Cuadro clínico

1 2 3 4 5 6 7 8 9
 FASE VIREMICA **FASE CRITICA** FASE RECUPERACION

Citoquinas en la fase del Dengue

Hospedero
HLA genes



Anti-PrP24

Anti-NS1

VCMA-1 ICAM-1

LFA-1

Complemento C3a - C5a

DC DC-SIGN

Monocitos

CD4+

CD8+

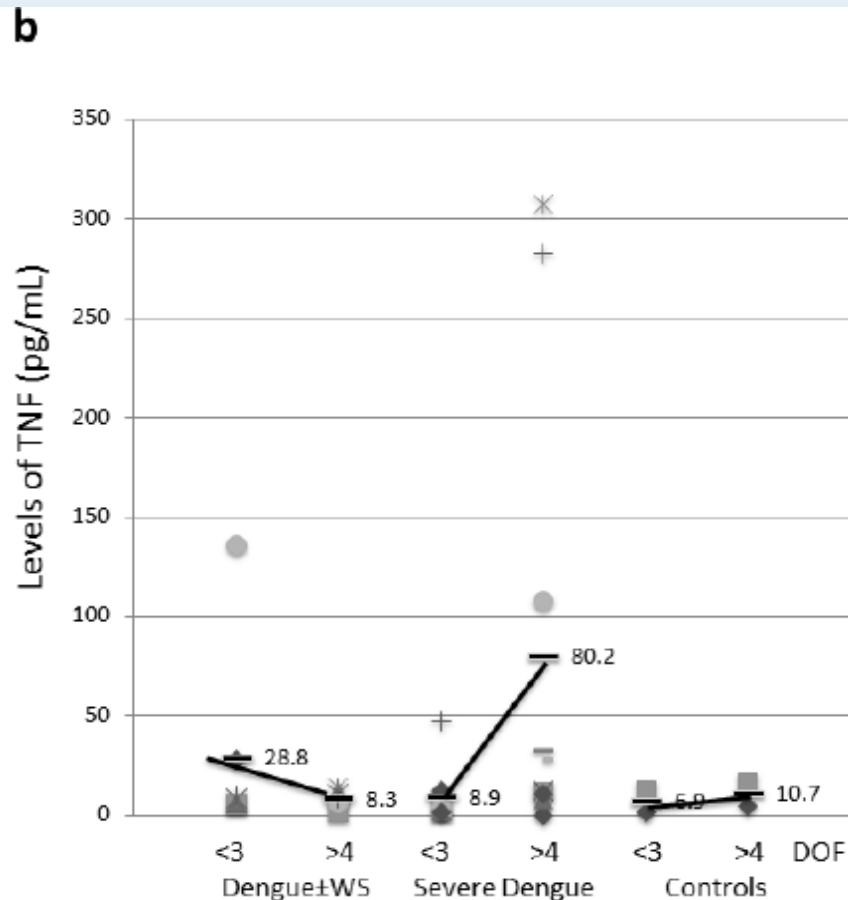
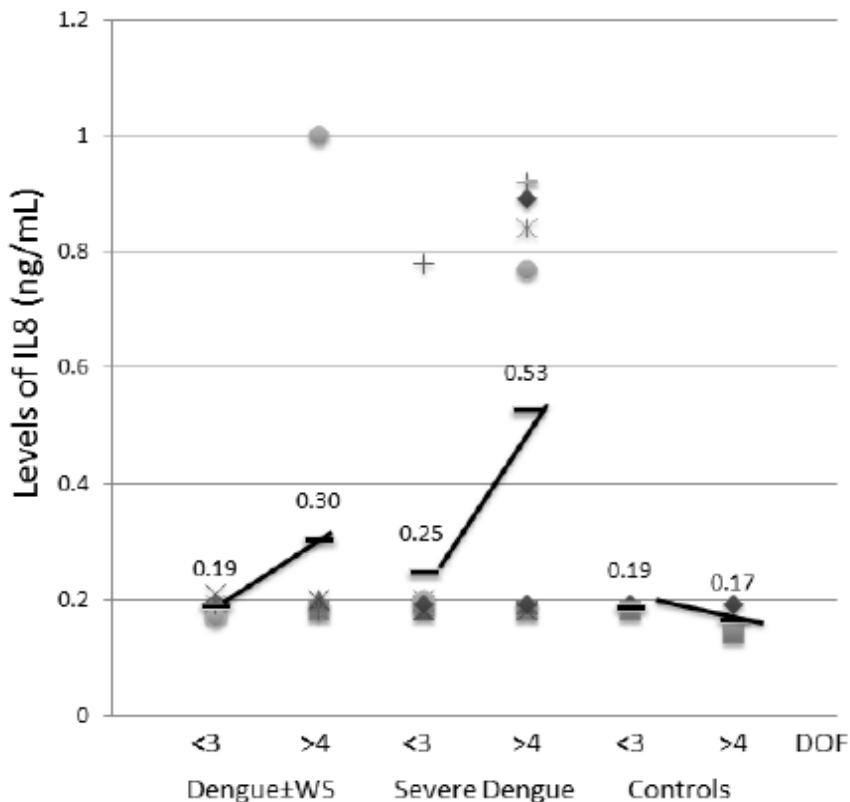
CD4+

CD8+





Dengue: Predominio decitokinas, Il-8 y TNF, en fase critica, en dengue severo. Merida – Venezuela 2012-2014

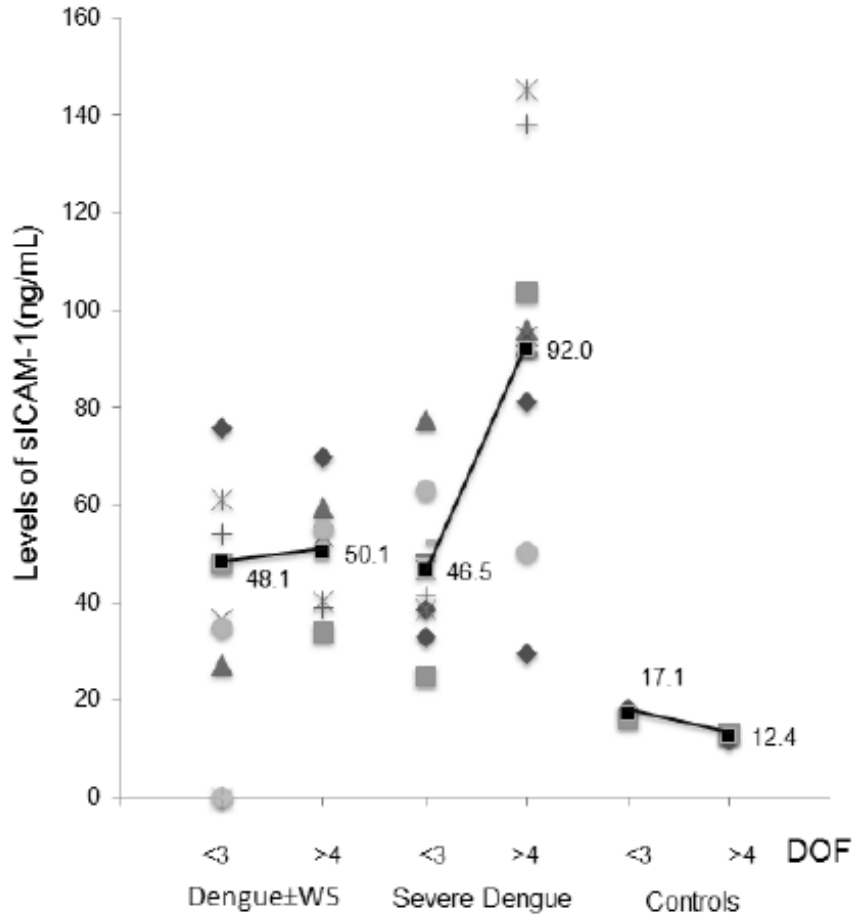




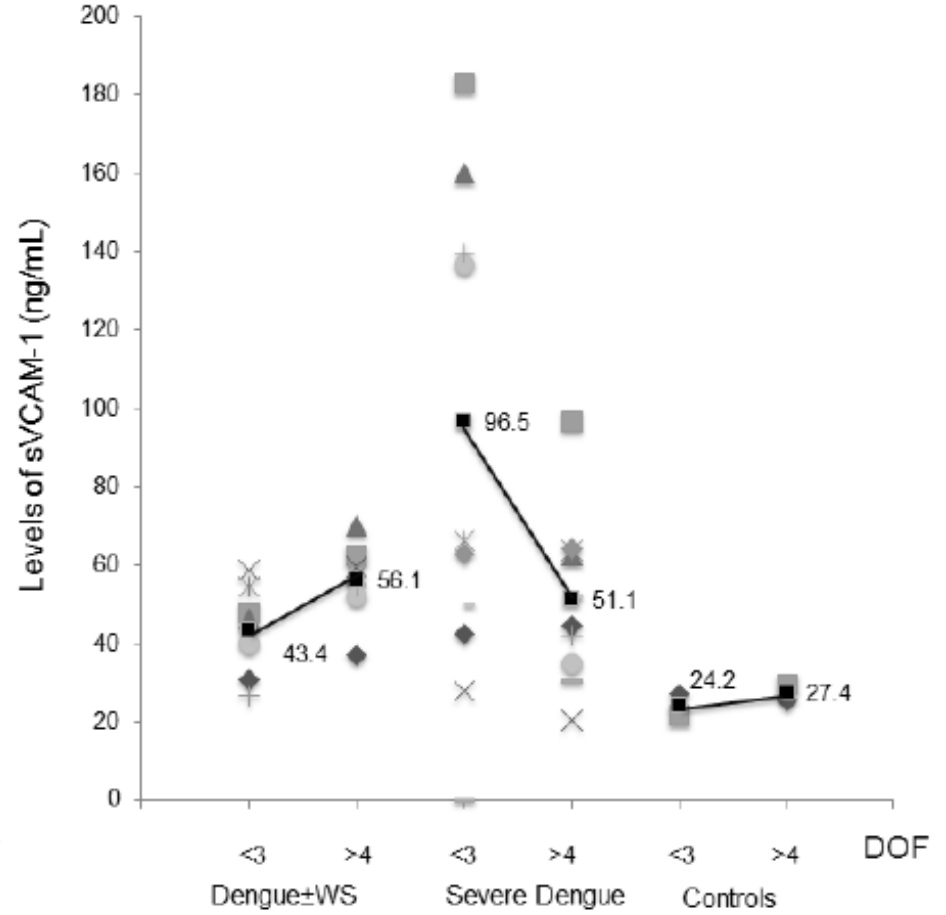
Dengue: significantes niveles elevados de VCAM-1 en fase aguda del dengue severo, como marcador temprano hace DG. Mérida – Venezuela 2012-2014



a

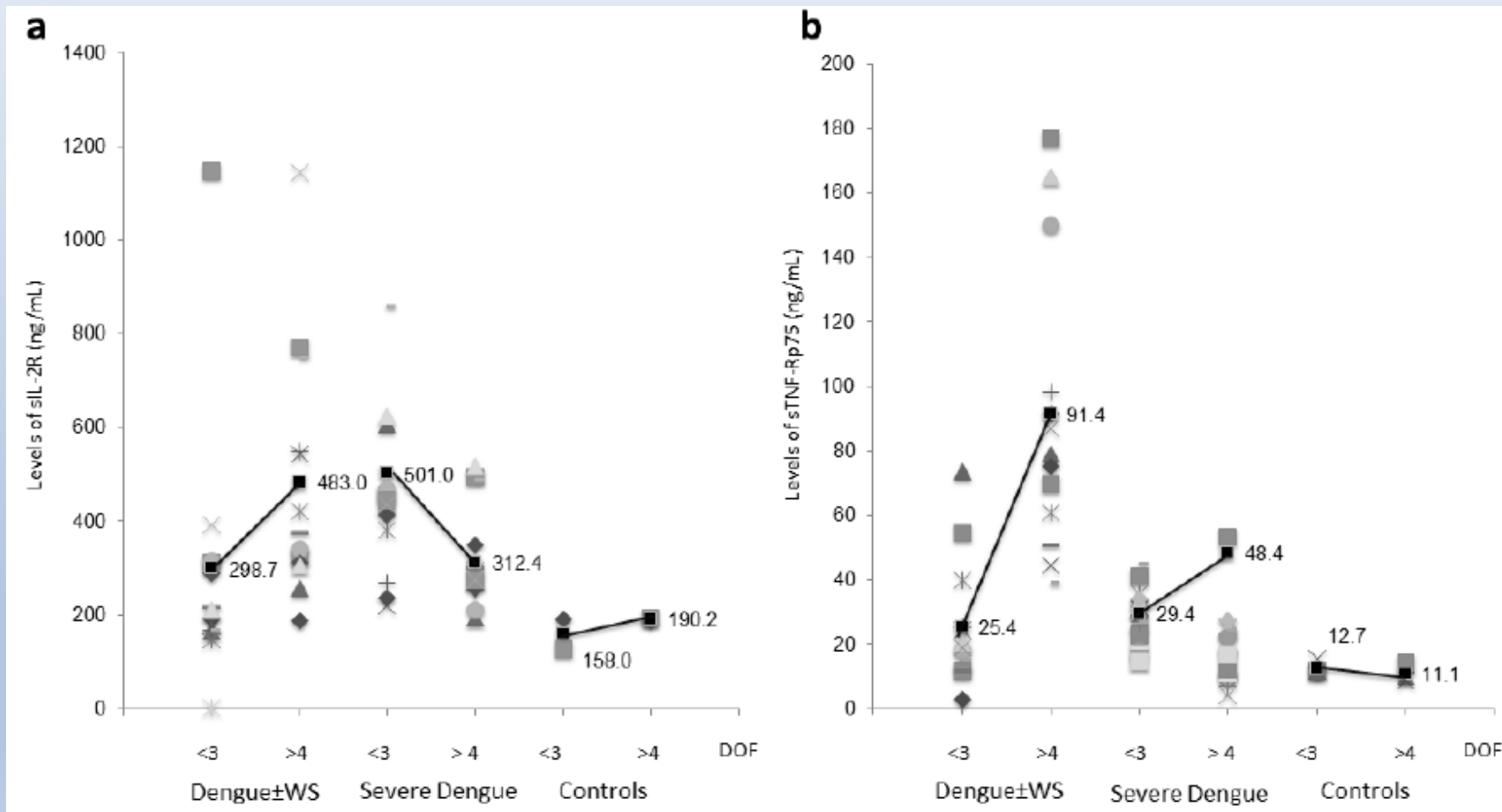


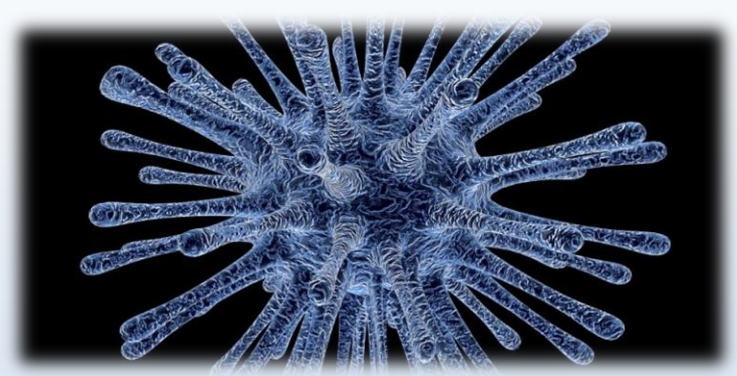
b





Dengue: significativos niveles del receptor IL2-R en fase aguda del dengue severo, como marcador temprano de proliferación linfocítica. Mérida – Venezuela 2012-2014





VIRUS ZIKA

DIAGNOSTICO - MANEJO



Algoritmo para detección de ZIKV

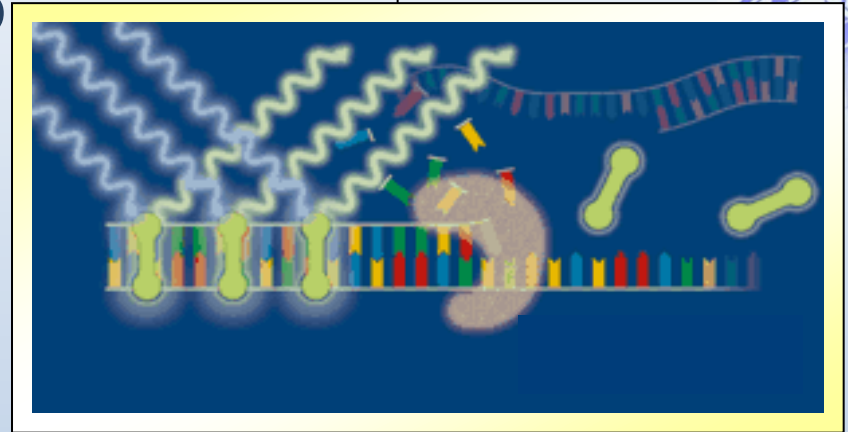
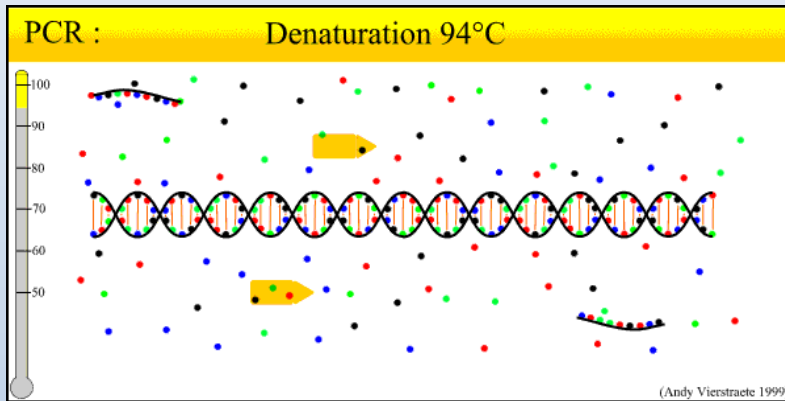
Caso sospechoso de infección por ZIKV (Según sintomatología y situación epidemiológica)^{1,3}



* El ensayo de IgM para DENV puede resultar positivo en pacientes infectados con ZIKV, por lo cual se espera una extensa reactividad cruzada en áreas donde circula DENV. Así, la detección molecular en muestras de la fase aguda debe ser priorizada.



INCORPORACION DEL PCR EN TIEMPO REAL Pacientes <4d de inicio



Es el método de amplificación de ácidos nucleicos que permite la medición de los productos generados durante cada ciclo del proceso. Los productos generados son directamente proporcionales a la cantidad de material genético presente al inicio de la reacción.

Applied Biosystem ABI7500
Laboratorio de Salud Pública Edo. Mérida





VIRUS ZIKA: ENSAYOS DE qRT-PCR desarrollados



570
571

Table 1. RT-PCR assays for the detection of Zika Virus

Citation	Year	RT-PCR Type	Target	Primer/Probe Name	Sequence 5'-3'	Position
Lanciotti et al. (23)	2008	One-step, real-time	prM	ZIKV 835 ZIKV 911c ZIKV 860-FAM ^a	TTGGTCATGATACTGCTGATTGC CCTTCCACAAAGTCCCTATTGC CGGCATACAGCATCAGGTGCATAGGAG	835-857 ^b 911-890 860-886
		One-step, real-time	E	ZIKV 1086 ZIKV 1162c ZIKV 1107-FAM ^a	CCGCTGCCCAACACAAG CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACTCAA	1086-1102 ^b 1162-1139 1107-1137
PAHO	2015	One-step, real-time		Zika 4481 Zika 4552c Zika 4507c-FAM ^c	CTGTGGCATGAACCCAATAG ATCCCATAGAGCACCCTCC CCACGCTCCAGCTGCAAAGG	4434-4453 ^d 4524-4505 4479-4460
Faye et al. (79)	2008	One-step, conventional	E	ZIKVENVF ZIKVENVR	GCTGGDGCRCGACACHGGRACT RTCYACYGCCATYTGGRCTG	1538-1558 ^b 1883-1902
Balm et al. (80)	2012	One-step, conventional	NS5	ZIKVF9027 ZIKVR9197c	CCTGGATTCTTGAACGAGGA AGAGCTTCATTCTCCAGATCAA	9121-9141 ^b 9312-9290
Faye et al. (81)	2013	One-step, real-time	NS5	Forward Primer Reverse Primer Probe ^c	AARTACACATACCARAACAAAGTGGT TCCRCTCCCYCTYTGCTCTTG CTYAGACCAGCTGAAR	9365-9390 ^b 9466-9446 9398-9413
Tappe et al. (66)	2014	One-step, real-time	NS3	ZIKAf ZIKAr ZIKAp ^f	TGGAGATGAGTACATGTATG GGTAGATGTTGTCAAGAAG CTGATGAAGGCCATGCACACTG	6001-6020 ^b 6095-6077 6039-6060
Pyke et al. (82)	2014	One-step, real-time	E	Zika E For Zika E Rev Zika E Probe ^e	AAGTTTGCATGCTCCAAGAAAAT CAGCATTATCCGGTACTCCAGAT ACCGGGAAGAGCATCCAGCCAGA	1222-1244 ^d 1293-1271 1246-1268
			NS1	Zika NS1 For Zika NS1 Rev Zika NS1 Probe ^e	GCACAATGCCCCCACTGT TGGGCCTTATCTCCATTCCA TTCCGGGCTAAAGATGGCTGTTGGT	3329-3346 ^d 3394-3375 3349-3373

572
573

RT-PCR, reverse transcriptase PCR; PAHO, Pan American Health Organization; prM, precursor Membrane; E, Envelope; NS5, Non-structural protein 5; NS3, Non-structural protein 3; NS1, Non-structural protein 1.

VIRUS ZIKA: ENSAYOS DE qRT-PCR desarrollados para región NS5

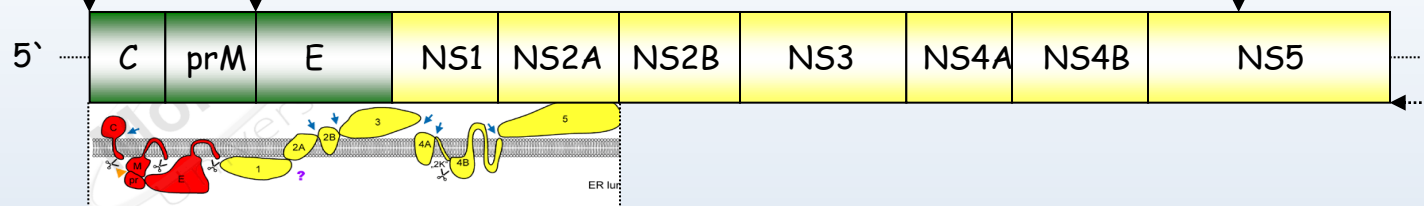
Primers	Nucleotide position	Sequence (5'-3')	Sequence orientation	Amplicon size (bp)
ZIKVF9027 ^a	9121-9141	CCTTGGATTCTTGAACGAGGA	Forward	192
ZIKVR9197 ^a	9312-9290	AGAGCTTCATTCTCCAGATCAA	Reverse	
GAPDH112F22 (internal control) ^b	112-133	GTGAAGGTCGGAGTCAACGGAT	Forward	264
GAPDH357R19 (internal control) ^b	375-332	GCCAGCATCGCCCCACTTG	Reverse	

Balm M., et al

Journal of Medical Virology 84:1501-1505 (2012)

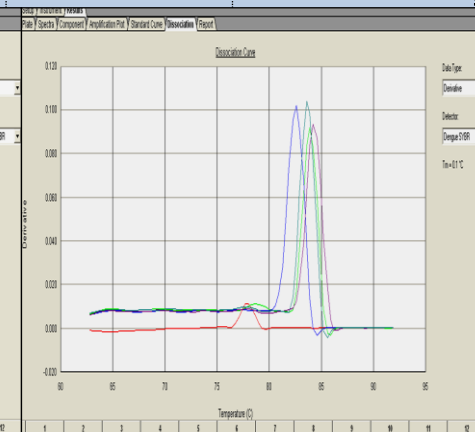
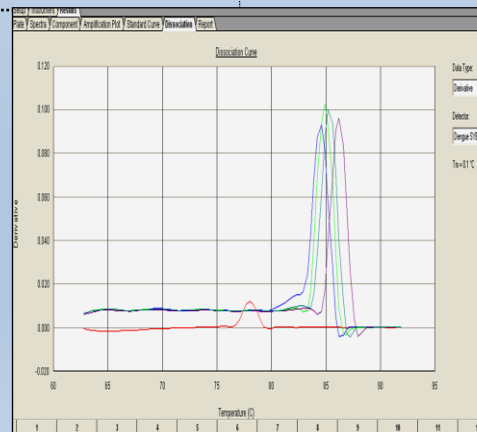
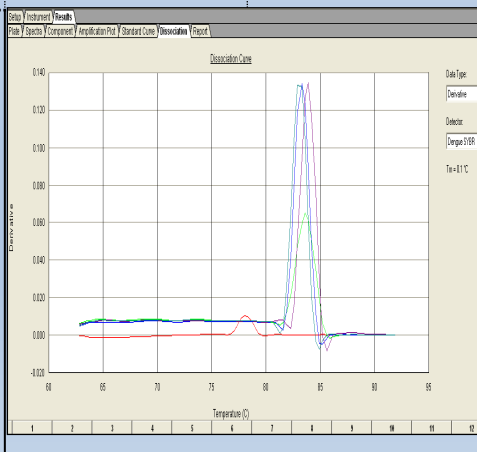
	Forward Primer	Probe	Reverse Primer
ArD127984/S1997	AAATACACATACCAAACAAAGTGGT	CTCAGACCAGCTGAAG	CAAGACCAGAGAGGGAGTGGGA
ArD7117/S1968C...
ArA2718/B1981
AnD30332/S1979C...
ArD127988/S1997
ArD142623/S2000C...
ArD165531/S2002
ArD9957/S1969C...
ArA50696/C1996
ArD132912/S1998G.....
ArD128000/S1997
ArD165522/S2002
Zika Malaysia/1966	..G.....	..T.....C...
Zika EC MN 2007	..G.....A.....A..G....C...
	AARTACACATACCARAACAAAGTGGT	CTYAGACCAGCTGAAR	CAAGACCARAGRGGGAGYGGGA

Faye et al. *Virology Journal* 2013, 10:311



Virus	CprM-Ct	CprM-Tm	3NC-Ct	3NC-Tm	NS5-Ct	NS5-
DV1	31.5	83.6	23.8	84.9	27.6	83.9
DV2	15.1	83.3	14.0	84.6	19.7	87.6
DV3	13.7	83.6	14.0	86.2	18.6	84.6
DV4	24.1	82.9	24.6	85.2	27.2	83.6

DISOCIACION





Comparación de la eficacia de amplificación de las regiones genéticas del virus del dengue, 3NC y NS5

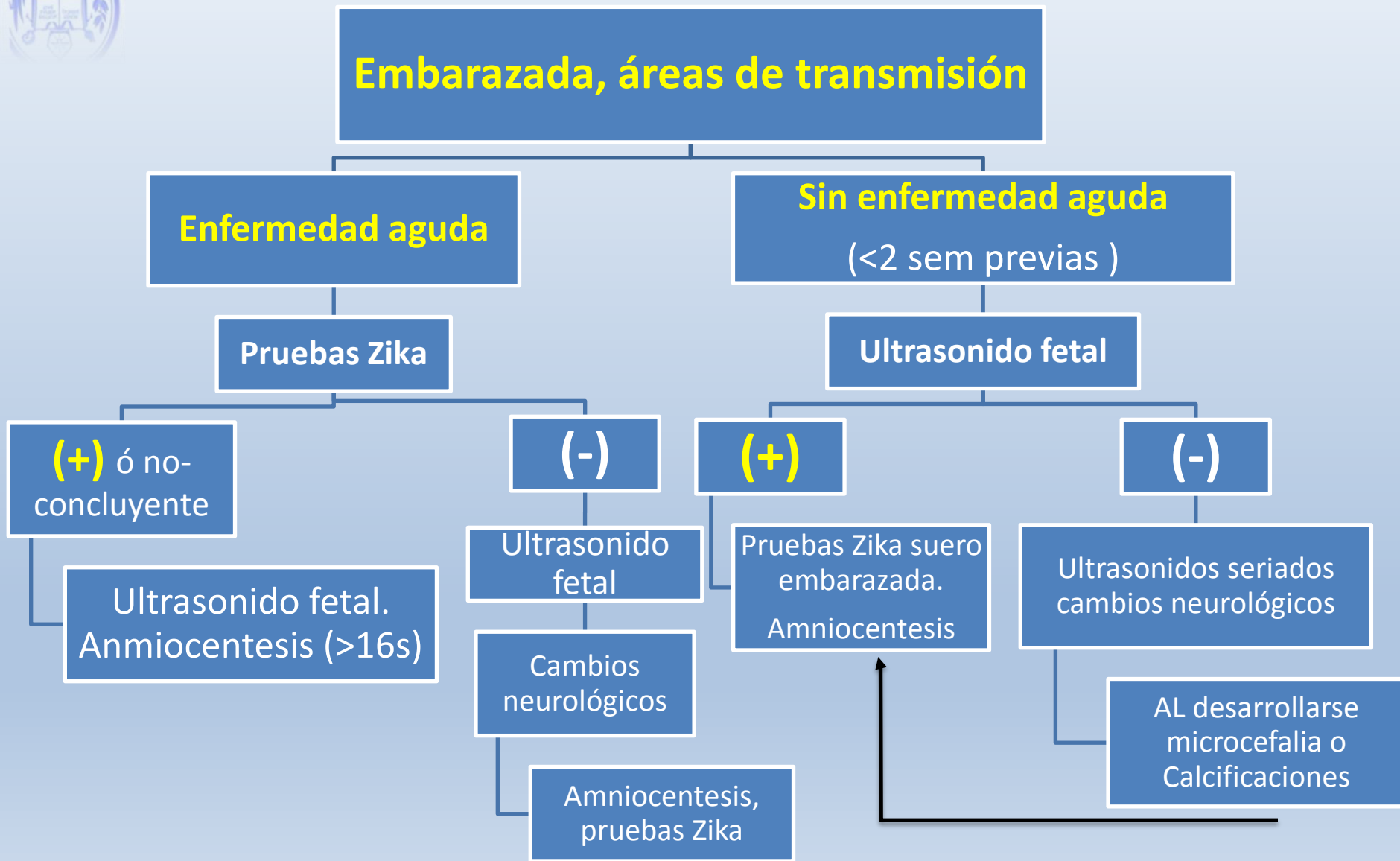


	Region 5NC(JMC)	Region 3NC
DV2(16681) - UFP(Ct)	7.8x10 ⁶ (21.1) 7.8x10 ⁵ (22.6) 7.8x10 ⁴ (24.3) 7.8x10 ³ (26.0) 7.8x10 ² (27.9)	7.8x10 ⁶ (14.5) 7.8x10 ⁵ (16.3) 7.8x10 ⁴ (18.5) 7.8x10 ³ (19.8) 7.8x10 ² (20.5)
Log ¹⁰ UFP	6,89 5,89 4,89 3,89 2,89	6,89 5,89 4,89 3,89 2,89
Slope	-1.7007	-1.7577
R ²	0,9971	0,9952
Eficiencia de amplificación(%)	>100	>100



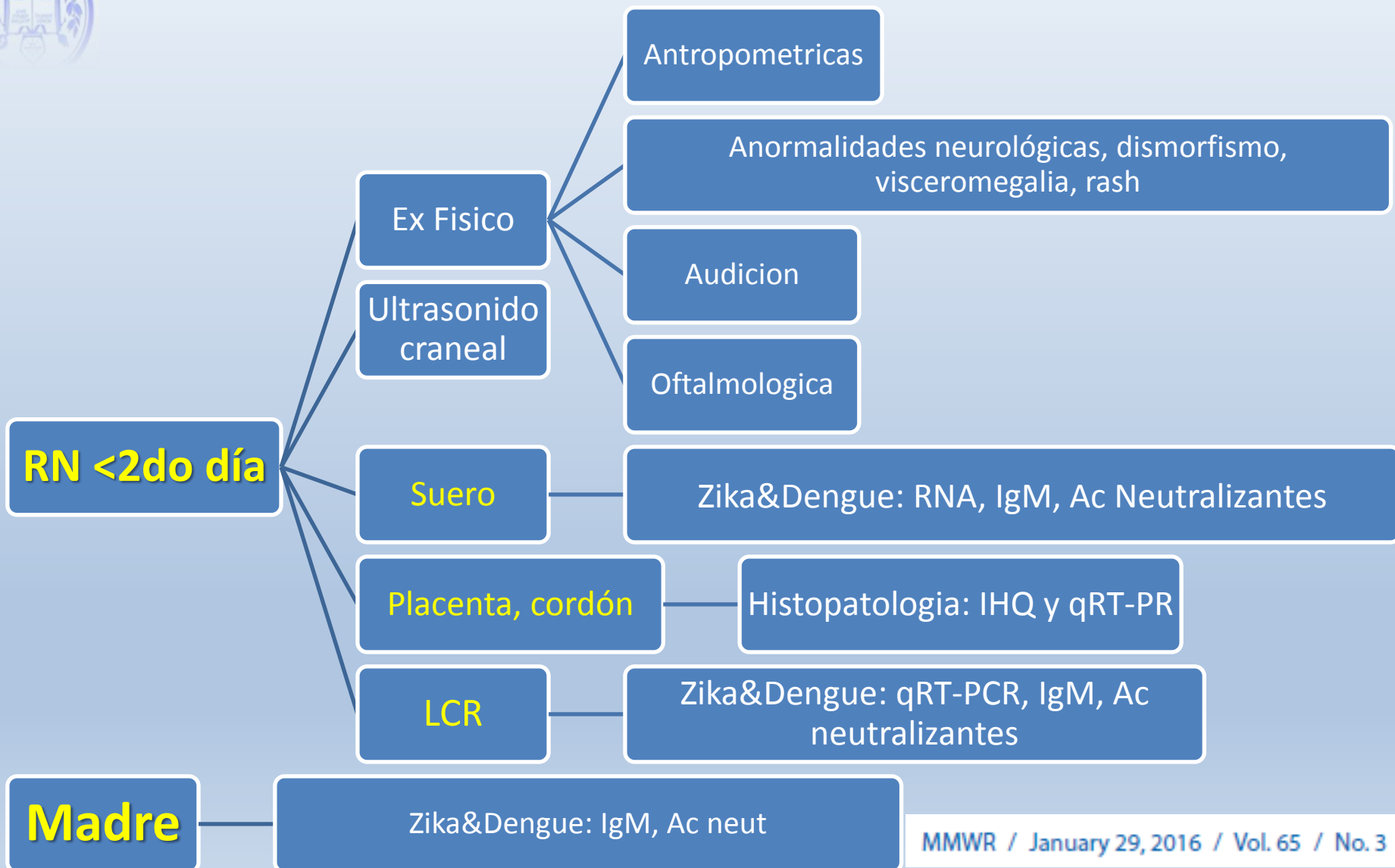
Virus Zika: flujograma de diagnóstico en mujeres embarazadas (con a sin viajes a zonas con casos)

MMWR / January 29, 2016 / Vol. 65 / No. 3





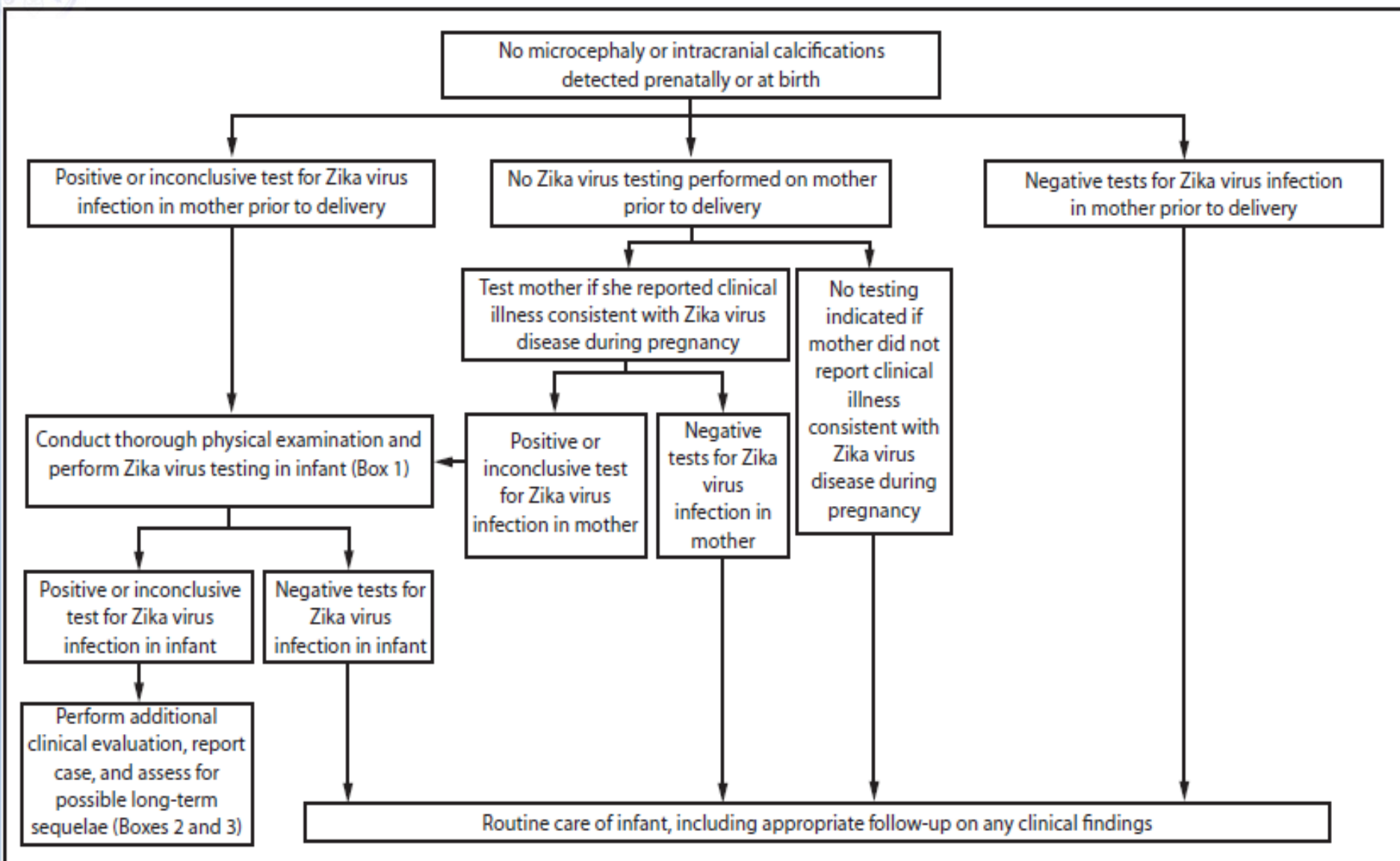
Virus Zika: evaluación de RN, CON daños neurológicos





Virus Zika: Guía evaluación del RN, SIN daños neurológicos

MMWR / January 29, 2016 / Vol. 65 / No. 3





VIRUS ZIKA: Manejo



- **Tratamiento sintomático:**
 - Reposo, abundante de líquido
 - Analgesia: acetaminofén o paracetamol.
 - Antihistamínicos
 - SUSPENDIDA la aspirina: riesgo de sangrado y al desarrollo de síndrome de Reye (<11 años).
- **Vigilar co-infección:** por Zika y dengue
- **Seguimiento** de embarazada, recién nacido y neuropatías
- **Medidas de comunicación al público**



SINDROME DE GUILLAIN BARRÉ: Diagnóstico



- **Estudios electrofisiológicos:** anormales 95-99%.
- **Hematología y VSG:** normales
- **LCR:**
 - Tubo#1: química y serología. Incremento proteínas (>10d), proteínas >55mg/dL; sin pleocitosis (mayoría de los casos), leucocitos
 - Tubo#2: microbiología para siembra
 - Tubo#3 -4: cuantificar células y congelarlo (virología)
- **Test GB:**
 - **Proteína 14-3-3:** marcador de proteína neuronal, elevada a las 12-48 hrs.
 - **Enzima convertidora de angiotensina (ACE):** elevación refleja activación macrofágica, sensibilidad 55%.
 - **Proteína TAU (Beta-2 transferrina):** marcador fosfo-proteico axonal. Sensibilidad Dx 80%. Marcador de mal pronóstico. Utilizada en diagnóstico del Alzheimer
- Incremento de **Ac-antigangliosidos anti-GM1**



SINDROME DE GUILLAIN BARRÉ: Tratamiento



- **Inmunoglobulina intravenosa (IVIg)**, elección
 - Dosis: 0.4mg/kg/día por 5 días – 2 semanas
 - Dosis múltiples en pacientes severos
- No hay beneficios el uso glucocorticoides (similar placebo)
- **Plasmaféresis por Filtración de Membrana (+recomendada)**
- **Ventilación mecánica**: falla respiratoria, protección de la vía aérea, control de secreción
- **Monitoreo en UCI**: disfunción autonómica, TA lábil (hipotensión), arritmias cardíacas
- **Rehabilitación** física





VIRUS ZIKA

DECLARACIONES DE OMS



Declaraciones OMS



- Desde que Brasil informó los primeros casos de transmisión local del virus en mayo de 2015, se ha extendido a 26 países y territorios de las Américas (30/01/16)
- Las Américas, rápida propagación del virus:
 - No exposición previa y carece de inmunidad
 - El mosquito Aedes está presente en todos los países de la región, con excepción de Canadá y Chile continental.
- El virus del Zika continuará extendiéndose y a todos los países y territorios de la región donde se encuentra el mosquito Aedes.



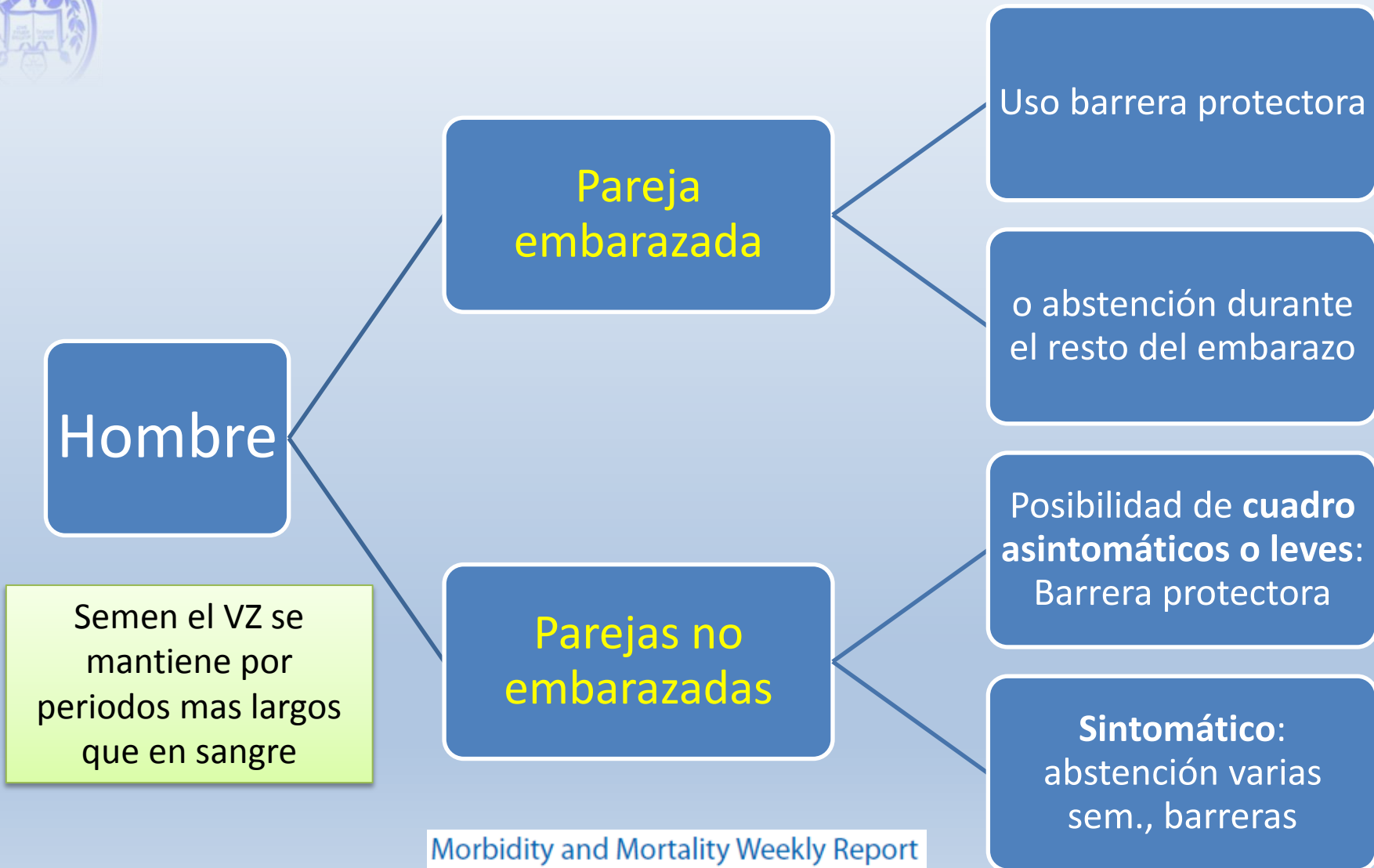
Declaraciones OMS: transmisión



- El papel de los **Aedes** en la transmisión del zika está bien documentada y entendida.
 - Otras vías de transmisión: semen humano, transmisión sexual de persona a persona
- El zika se puede transmitir a través de la **sangre**, poco frecuente.
 - Sangre segura y transfusiones.
- La evidencia sobre la **transmisión de madre a hijo** del zika durante el embarazo o el parto



Virus Zika: Transmisión Sexual





Declaraciones OMS



- Actualmente no existe evidencia de que el zika se puede transmitir a través de la leche materna. Las madres en zonas con circulación del virus deben seguir las recomendaciones de la OPS/OMS sobre lactancia materna
- Las mujeres embarazadas: microcefalia
 - Viajes zonas de transmisión
 - Las mujeres expuestas: vigilancia
 - Cualquier decisión de aplazar el embarazo es una decisión individual entre una mujer, su pareja y su proveedor de salud.



Declaraciones OMS



- Las poblaciones de mosquitos deben reducirse y controlarse mediante la eliminación de los criaderos.
 - Depósitos de pequeñas cantidades de agua: baldes, macetas, neumáticos, etc.
 - Uso de larvicidas para tratar aguas estancadas.
- Protegerse de las picaduras:
 - Repelente de insectos
 - Cubrirse: ropa (de preferencia de color claro)
 - Barreras físicas: ventanas, puertas, dormir bajo mosquiteros, especialmente durante el día, cuando los mosquitos Aedes están más activos.



El dengue, zika y chicunguña

Para prevenir la enfermedad

❑ Para combatir los criaderos lave y mantenga limpia su pila o tanques de agua.

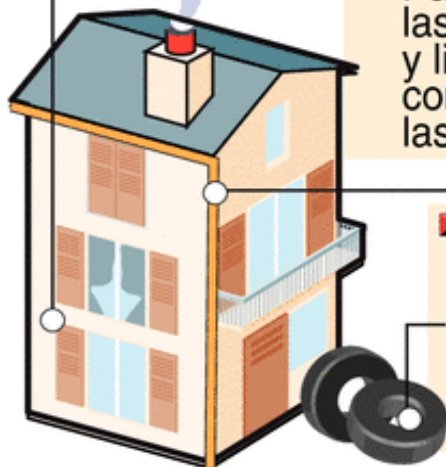


❑ Tapar los recipientes con agua, eliminar la basura acumulada en patios y áreas al aire libre.



❑ Utilizar repelentes en las áreas del cuerpo que estén descubiertas

❑ Para combatir las larvas revise y limpie constantemente las canaletas.



❑ Rellene y mantenga bajo techo las llantas en desuso.



❑ Botar el agua acumulada, cambiar frecuentemente el agua de los bebederos de animales y floreros.

❑ Uso de mosquiteros o toldillos en las camas sobre todo cuando hay un paciente enfermo para evitar que infecte nuevos mosquitos. Igualmente en los lugares en que duermen los niños.



Fuente: Instituto Nacional de Salud

Infografía: Aurelio Valencia Gómez 

ESTRATEGIAS DE LUCHA ANTIVECTORIAL

Dra. Silvana Vielma
Email: vielmasa@ula.ve



MUCHAS GRACIAS

Instituciones

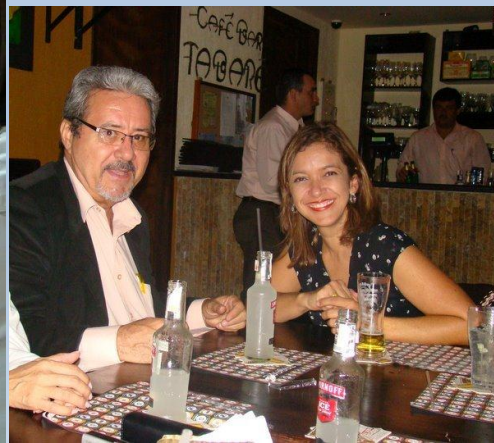
CDCHT-ULA, Fonacit G-2005000821

INH"RR", Corporación de Salud

Casas Comerciales: Heiga, CCV

Investigadores:

Mi equipo: Odreman MI, Pinto Z., Torres C.



Otros Centros:

Dr. Guillermo Comach,
LARDIDEV

Dr. Fernandino Liprandi,
IVIC

Dr. Alvaro Ramirez, IVIC

Dr. Ines Bosch, UIMASS



Muchas gracias.

