

[Centro de Información de COVID \(CIC\): Charlas Científicas Relámpago](#)

[Transcripción de una presentación de Ellen Foxman \(Yale University\), April 24, 2023](#)



Título: [Pruebas de detección basadas en la respuesta del huésped para detectar virus respiratorios inesperados o emergentes](#)

[Ellen Foxman CIC Perfil](#)

NIH Award #: [5R21AI156208-02](#)

[Grabación de YouTube con diapositivas](#)

[Primavera 2023 CIC Webinar Información](#)

Transcript Editor: [Karem Coca](#) and [Lylybell Teran](#)

Transcripción

Diapositiva 1

Ellen Foxman:

Muy bien, muchas gracias. Espero - ¿puedo - ¿estoy bien? ¿Todos pueden ver la pantalla? Bien, genial, está bien. Bueno, muchas gracias por recibirnos a todos. Es fantástico - He estado viendo estos correos electrónicos CIC y viendo a las otras personas presentes, pero es realmente un placer tener la oportunidad de presentar en el CIC and participar y llegar a esta comunidad. Hoy, me gustaría compartir algunos trabajos recientes de nuestro grupo sobre la detección de virus respiratorios basada en la respuesta del anfitrión

Diapositiva 2

Voy a empezar con lo más importante que es reconocer a todos los involucrados que hicieron este proyecto, que incluye nuestra financiación de NIH y otras fuentes. También quiero agradecer a Reddy Cheemarla y Amelia Hanron que hicieron las pantallas de las que voy a hablar hoy, así como a numerosos colegas de la Escuela de Medicina de Yale y la Escuela de Salud Pública de Yale que trabajan juntos para permitir que este proyecto suceda.

Diapositiva 3

Así que el objetivo de este proyecto era realmente abordar el tema de la vigilancia para el SARS-CoV-2 - bueno, en realidad, la vigilancia de los nuevos virus respiratorios emergentes. Hay un nuevo imperativo y alta prioridad para hacer esto debido a la pandemia COVID. Como todos saben, hay muchas estrategias ya en marcha para buscar virus respiratorios emergentes y esto es realmente importante porque si podemos encontrar un virus temprano podemos desarrollar pruebas de diagnóstico, podemos desarrollar antivirales, y en última instancia vacunas y esperamos reducir el impacto de futuros virus para que no sea tan impactante como lo han sido estos últimos años de la pandemia.

Esta diapositiva solo destaca algunas de las estrategias actuales. Una es mirar las infecciones zoonóticas para ver si hay algún virus que tenga una buena probabilidad de saltar a los humanos, y eso es un trabajo muy importante, así como proyectos de vigilancia para brotes de neumonía como el proyecto de vigilancia que llevó al descubrimiento del SARS-CoV-2 en China. [Este proyecto] señaló que había un grupo de casos de neumonía sin diagnóstico virológico. Así que estas estrategias son muy valiosas, pero de lo que voy a hablar hoy es de una estrategia complementaria adicional que aprovecha algunos recursos sin explotar para la vigilancia de virus emergentes.

Diapositiva 4

Así que esto se basa realmente en la idea de utilizar muestras clínicas de rutina que obtenemos en el curso de la atención al paciente para hacer la vigilancia viral. Esto - muchos hospitales de atención terciaria como nuestro hospital en Yale New Haven Healthcare tienen un panel de PCR multiplex que utilizamos para el diagnóstico de pacientes. Lo que esto es es un panel con pruebas de PCR para muchos virus respiratorios diferentes como los 10 o 15 virus respiratorios más comunes. Esto no es lo que vas a conseguir si vas a la sala de emergencias y claramente probablemente tengas gripe o COVID. Probablemente le harán una prueba RAPID o una prueba PCR rápida para ese virus. Esta prueba realmente se implementa para casos más complicados donde no está claro lo que está pasando. Por ejemplo, alguien con fiebre, tos, dificultad para respirar, que tiene síntomas no específicos. A menudo y no está seguro de cuál es el cuadro clínico. Incluso en el pico de la temporada respiratoria, cuando personas como esa se hacen esta prueba en nuestro sistema de salud, solo un tercio de ellas resultan ser positivas para los virus. Dos tercios de ellos no lo son. Y para la mayoría de esos dos tercios probablemente no tienen una infección viral - probablemente tienen algo más que causa su falta de aliento o su fiebre o así sucesivamente. Escondidos aquí, entre las personas donde no se detectó ningún virus probablemente hay algunos casos de personas que tienen un virus pero que solo tienen un virus que no podemos probar en nuestro panel de PCR porque el virus no está allí. Los reactivos no están ahí para detectar ese virus. Sería genial poder encontrarlos porque algunos de estos representan claramente virus en los que realmente no estamos pensando como causantes de enfermedades en nuestros pacientes o virus que ni siquiera conocemos todavía porque están

emergiendo. Analizar todas estas muestras negativas para los virus no diagnosticados sería mucho tiempo y costoso y realmente prohibitivo porque tenemos cientos de éstos por semana así que no hay manera que usted podría hacer el descubrimiento profundo del virus en cada uno de éstos. Sería, ya sabes, no práctico. Así que lo que vimos aquí es una forma de cribar estos para enriquecer las muestras que son más propensas a contener un virus no diagnosticado. Puedes buscar esa aguja en el pajar concentrándote en las muestras más importantes.

Diapositiva 5

La forma en que elegimos hacer esto fue aprovechar la respuesta del cuerpo a la infección. Cuando el tejido de las vías respiratorias se infecta por un virus, inicia inmediatamente una respuesta antiviral que implica la secreción de algunas proteínas antivirales. En un trabajo previo de nuestro grupo, demostramos que algunas de estas proteínas, por ejemplo, hablaré mucho sobre CXCL10 hoy también conocido como IP10 o proteína inducida por interferón 10. Esta proteína es esencialmente una de las principales proteínas secretadas por las células epiteliales nasales cuando se exponen a un virus. Previamente hemos demostrado que los niveles de esta proteína - esta proteína elevada se correlaciona altamente con tener una carga viral significativa en la nariz de uno de los muchos virus diferentes como se ve aquí. Buscamos usar esta proteína como pantalla y decir, bien, aquí tenemos a todas estas personas sin virus detectado, pero entre esas personas que de esas personas están teniendo una respuesta inmune antiviral en sus vías respiratorias. La forma en que detectamos eso es mediante el uso de CXCL10 como un biomarcador de la defensa antiviral en el tracto respiratorio superior. Si podemos examinar para que la razón que estas personas con ese biomarcador van a ser las muestras de alto rendimiento porque esas son las personas que son propensas a tener una infección no diagnosticada.

Diapositiva 6

Así que hicimos dos pantallas diferentes. Primero, les contaré sobre la pantalla que Amelia hizo en enero en muestras de solo una semana de enero de 2017. Esta es una semana donde hay muchos virus circulando. Esa semana analizamos 359 muestras en el panel respiratorio y la mayoría de ellas, como he mencionado, son negativas para todos los virus del panel, que en ese momento eran solo 10 virus ahora, tenemos más. Luego los examinamos para este biomarcador CXCL10 y que resultó en solo - de estos 251 solo 60 muestras tenían la respuesta antiviral activada en la nariz. Nos centramos en ellos. Pero antes de hacer el descubrimiento de virus pensamos, bueno, ya sabes que solo teníamos 10 virus en el panel nos faltan algunos importantes como los virus respiratorios estacionales. ¿Y si los probamos? Así que hicimos eso y encontramos que en realidad la mitad de estas 60 muestras eran positivas para coronavirus estacionales, lo que fue una buena prueba del concepto de la estrategia y también nos ayudó a centrarnos en las verdaderas incógnitas que representaban 32 muestras. Fuimos capaces de reducir todas esas pruebas negativas a solo 32 muestras que eran de gran interés.

Diapositiva 7

A continuación, elegimos hacer una secuenciación metagenómica para ver todo el ácido nucleico en las muestras y preguntar: ¿hay secuencias de virus allí? En realidad solo nos centramos en el top 10 por nivel de biomarcadores porque mostramos previamente el nivel de biomarcadores - si es más alto es más probable que tenga un virus. Así que hicimos esta secuenciación de ARN y encontramos que una de las muestras -Muestra A - tenía decenas de miles de lecturas en el ARN, en esa muestra, que eran del virus de la influenza C. Sentimos que esta es una buena prueba de principio - prueba de concepto - porque el virus de la influenza C es un patógeno viral conocido, pero no es tan común y no solemos probarlo. No está en nuestro panel, pero aún así fuimos capaces de recogerlo a través de esta estrategia. Para probar que este virus estaba en la muestra inoculamos las células epiteliales nasales humanas primarias con el - con la muestra real del paciente y pudimos observar el efecto citopático del virus, formación de sincitia, así como ese virus en estas secreciones de estas células epiteliales nasales siete días después. Así que este, nuestro primer paso en esta estrategia funcionó bastante bien en la identificación de una muestra que tenía un virus clínicamente significativo no diagnosticado.

Diapositiva 8

La siguiente pantalla que les contaré fue - estábamos terminando ese proyecto cuando llegó COVID y pensamos que saben lo que me pregunto si podríamos usar esta misma estrategia para encontrar casos no diagnosticados de SARS-CoV-2 desde el comienzo de la pandemia. Si nos fijamos en este gráfico, el gris representa los recuentos de casos en los Estados Unidos en marzo de 2020 y luego el azul es el estado de Nueva York, que está bastante cerca de nuestro hospital. El verde es Connecticut y el rojo es nuestro hospital. El soporte aquí muestra este tiempo entre todos estos virus que entran en la región de Nueva York y el momento en que nuestra prueba de PCR estaba en marcha para SARS-CoV-2. En esas dos semanas probamos 375 muestras en nuestro panel respiratorio que todas dieron negativo. Así que en realidad había - era alrededor de la mitad o sesenta por ciento de las muestras de ese período dio negativo.

Pensamos bien, veamos si este biomarcador detectaría cualquier caso no diagnosticado de SARS-CoV-2. Hicimos pruebas de detección con el biomarcador y, en paralelo, con la prueba RQ-PCR, está la prueba típica de PCR para COVID.

Diapositiva 9

Lo que finalmente encontramos fue que había cuatro casos no diagnosticados de COVID que descubrimos por PCR como se muestra en estos puntos rojos aquí. Entonces este gráfico representa el nivel del biomarker. Lo que pueden ver es que para la mayoría de las muestras el 92 por ciento del biomarcador estaba por debajo de nuestro umbral de corte. Para un pequeño porcentaje, alrededor del ocho por ciento de las muestras, el biomarcador estaba por encima de ese umbral. Todas las muestras positivas de COVID estaban en ese grupo. Así que si hubiésemos hecho - si hubiéramos querido podríamos haber hecho el biomarcador primero y solo probado

una décima parte de las muestras por PCR y aún así encontrar todos los casos sin diagnosticar. Esta fue una muy buena manera de obtener una visión completa de cómo esta estrategia podría funcionar. Además, la ventaja de usar estas muestras nasales para el cribado es que pudimos directamente, con nuestros colegas del Laboratorio Grubaugh, obtener la secuencia de esos virus y hacer epidemiología molecular que es su especialidad en el Laboratorio Grubaugh. Lo que encontraron fue que, curiosamente, todos estos cuatro aislamientos de ese momento temprano en la pandemia eran genéticamente distintos. Eso representa que el SARS-CoV-2 está entrando en nuestro sistema de salud y en Connecticut por múltiples líneas de transmisión diferentes en ese momento. No todo era de una sola fuente. Así que ese tipo de da la imagen más amplia de que la transmisión era mucho más generalizada de lo que nos dimos cuenta en ese momento.

Diapositiva 10

Finalmente - No tengo tiempo para discutir esto hoy pero solo quería señalarle el papel si está interesado y hacerle saber que hicimos una caracterización mucho más profunda de estas muestras desconocidas y compararlas con casos conocidos de pacientes con virus positivos y virus negativos. Analizamos la respuesta del huésped nasal a la infección mediante la secuenciación del ARN y el perfil de citoquinas. Se pueden ver patrones más sutiles. Así que sobre todo hoy hablé de elevación en un biomarcador - CXCL10 - pero en realidad hay numerosos patrones que se pueden seleccionar que podrían ser útiles en el futuro para el desarrollo de pantallas de respuesta del anfitrión más sofisticados y aprender más sobre las infecciones no diagnosticadas en la población de pacientes.

Diapositiva 11

Para resumir: los hallazgos clave de este estudio fueron que utilizamos un único biomarcador de la respuesta de la mucosa nasal a los virus para enriquecer las muestras que contienen virus no diagnosticados. Utilizamos estas muestras de pacientes que prueban el virus negativo y utilizamos el biomarcador para destacar qué muestras debemos seguir más. Estos exámenes de detección diagnosticaron un caso de virus de la influenza C diagnosticado con udiagnosed, así como cuatro casos no diagnosticados de SARS-CoV-2 que fueron epidemiológicamente significativos. Lo que estamos haciendo ahora es que nos gustaría ampliar esta revisión haciendo que los flujos de trabajo sean más automatizados y hay un poco de eso en el periódico. También estamos interesados en colaborar con personas que podrían tener muestras de diferentes regiones geográficas porque, obviamente, en diferentes regiones puede haber diferentes virus no diagnosticados circulando. También estamos interesados en usar estos inmunofenotipos nasales para ayudar a analizar más a fondo las infecciones no diagnosticadas que están ocurriendo en nuestras poblaciones de pacientes.

Diapositiva 12

Así que con eso, voy a concluir y me encantaría tomar cualquier pregunta adicional al final de esto - al final de la charla de todos. Así que muchas gracias por su atención.