



Prevalencia de agentes virales en pacientes asociados a infecciones respiratorias en vías bajas

Juan Carlos Bravata-Alcántara,* Iliana Alejandra Cortés-Ortiz,**
Juan José Méndez-Velázquez,* Bruno Emilio Jiménez-Barba,*
Sonia Chávez-Ocaña,*** Mónica Sierra-Martínez*

RESUMEN

Introducción. Las infecciones respiratorias agudas de las vías bajas (IRBs) son las infecciones más frecuentes en niños y adultos, constituyendo un problema importante de salud en países en desarrollo. En México se presentan hasta 25 millones de casos al año. Las IRBs producen alta morbilidad y son causadas en 90% por adenovirus, coronavirus, rinovirus, influenza, parainfluenza, virus sincitial respiratorio (VSR). Los métodos de diagnóstico tradicionales pueden tardar de 48 a 72 h, presentando baja sensibilidad y limitaciones para el aislamiento de patógenos. Con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es posible realizar un diagnóstico eficaz, rápido y de bajo costo. El objetivo de esta investigación es evaluar la prevalencia de los patógenos aislados de pacientes con diagnóstico de IRBs atendidos en el Hospital Juárez de México. **Material y métodos.** Se emplearon 57 muestras de pacientes con IRBs que se encontraban en Medicina Interna y Pediatría. Las muestras se obtuvieron de expectoración con trampa. Para identificar los virus se utilizó el kit comercial de SEEGEN® RV16 detección, mediante una PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR) en tiempo real. **Resultados.** De las 57 muestras se encontró que 31/57 fueron positivas a virus respiratorios, de las cuales 14/31 corresponden a virus sincitial respiratorio A, 9/31 a virus sincitial respiratorio B y 4/31 a rinovirus. **Conclusiones.** La utilidad de conocer la prevalencia del tipo viral en pacientes con IRBs es el manejo adecuado de medicamentos dirigidos, evitando así estancias hospitalarias más prolongadas y con ello la disminución de costos.

Palabras clave. Virus respiratorios, detección, PCR.

ABSTRACT

Background. Acute respiratory infections of the lower tract (IRBs) are the most common infections in children and adults, it constituting a major health problem in developing countries. In Mexico IRBs occur up to 25 million cases a year. IRBs produce high morbidity and mortality and are caused up to 90% by: adenovirus, coronavirus, rhinovirus, influenza, parainfluenza, respiratory syncytial virus (RSV). Traditional diagnostic methods can take from 48 to 72 h, presenting low sensitivity and limitations for the isolation of pathogens. With the polymerase chain reaction (PCR) we can make an effective, rapid and inexpensive diagnosis. This study aimed to assess the prevalence of pathogens isolated from patients diagnosed with IRBs in the Hospital Juárez de México. **Material and methods.** 57 samples from patients with IRBs who were in internal medicine and pediatrics were used. The samples were obtained from sputum trap. The identification of the virus was using the commercial detection kit SEEGEN® RV16 by polymerase chain reaction with reverse transcriptase (RT-PCR) in real time. **Results.** Of the 57 samples, it was found that 31/57 were positive for respiratory viruses, of which 14/31 corresponded to respiratory syncytial virus A, 9/31 to respiratory syncytial virus B and 4/31 to rhinovirus. **Conclusions.** The usefulness of knowing viral prevalence rate in these patients with IRBs, is the proper management of targeted drugs, thus avoiding longer hospital stays and thereby decreasing costs.

Key words. Respiratory viruses, detection, PCR.

* Lab. 3 Genética y Diagnóstico Molecular.

** Laboratorio Central, Hospital Juárez de México, Secretaría de Salud.

*** Servicio de Genética, Hospital Juárez de México, Secretaría de Salud.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas de las vías bajas (IRBs) son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infecciosa a nivel mundial. Se estima que representan alrededor de 75% de las patologías agudas en países desarrollados y que 80-90% de las IRBs son de etiología viral; además, estas infecciones constituyen un importante motivo de hospitalización y muerte, fundamentalmente en temporada invernal.¹ Los virus afectan principalmente a los niños menores de dos años, ancianos mayores de 60 años y pacientes inmunodeprimidos y con enfermedades crónicas como cardiopatías o broncopatías.²

Estas infecciones tienen un gran impacto socioeconómico debido al amplio consumo de recursos del sistema sanitario, sobre todo por el tratamiento de sus complicaciones, el uso inapropiado de antibióticos,³ y debido a que son responsables de un elevado número de casos de absentismo laboral.⁴

Actualmente, en la práctica clínica muy pocas veces se realiza la identificación del virus causante de las IRBs, principalmente porque se presentan limitaciones en las técnicas de diagnóstico disponibles y/o a la presencia de patógenos aún no conocidos.⁵ Las técnicas tradicionales que se emplean para la identificación de los virus causantes de las IRBs son el cultivo celular o técnicas de inmunofluorescencia; actualmente se cuenta con métodos a partir de biología molecular, como lo es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual ha mejorado considerablemente la detección del agente causal de las infecciones respiratorias no diagnosticadas. Pero aun teniendo estas técnicas, en 40-60% de los casos no se realiza la identificación del virus causante de las IRBs.⁶

Etiología

La mayoría de las infecciones del tracto respiratorio inferior son de origen viral y sólo un pequeño número produce infección grave o fatal.⁷ Los agentes causales de las infecciones respiratorias varían dependiendo del padecimiento que originan.

En la categoría de virus respiratorios (VR) se incluyen los virus de la gripe A y B, virus respiratorio sincitial (VRS), parainfluenza virus (PIV) tipos 1, 2 y 3, adenovirus (AD V), rinovirus (HRV), coronavirus (CoV) 229E y OC43, y algunos enterovirus,⁸ pero en los últimos años se han añadido a este grupo otros virus como el metapneumovirus (hMPV).⁹

Incidencia y epidemiología

De acuerdo con el boletín epidemiológico proporcionado por la Dirección General de Epidemiología (DGE), en

el 2014 se reportaron un total de 83,576 casos de neumonía y bronquitis en todo el país, de los cuales 7,211 se presentaron en la Ciudad de México. Para el caso de mortalidad se reportaron 27,493,239 casos asociados a enfermedades respiratorias agudas.

Diagnóstico

Para el diagnóstico de VR es posible utilizar diferentes técnicas, mismas que cada laboratorio clínico definirá en función del tipo de población que atiende, así como del personal y recursos de los que dispone.

En general, los métodos de elección para el diagnóstico de las infecciones respiratorias son directos, principalmente técnicas de detección de antígenos, aislamiento viral y técnicas de detección genómica. Los métodos de diagnóstico indirecto o serológicos son poco útiles (salvo algunas excepciones, como la reacción de inhibición de la hemaglutinación para el subtipado del virus de la gripe), ya que las infecciones respiratorias víricas son muy prevalentes, ocasionan frecuentes reinfecciones y afectan fundamentalmente a las mucosas, sin producirse una respuesta inmunitaria sistémica. Así, el uso de técnicas serológicas queda prácticamente reducido a estudios epidemiológicos, además de que los tiempos de espera son prolongados, y pueden variar desde 48 a 72 h. Debido a este problema en la identificación, se han utilizado técnicas basadas en pruebas al ADN, como la de PCR, que ofrecen rapidez, bajo costo, automatización, sensibilidad y especificidad.¹⁰

Por otro lado, la existencia de un elevado número de virus que pueden estar involucrados en la patología respiratoria y no siendo infrecuente la detección de infecciones múltiples, ha hecho necesario el diseño de métodos de PCR múltiple en los que simultáneamente se puedan identificar numerosos virus.¹¹

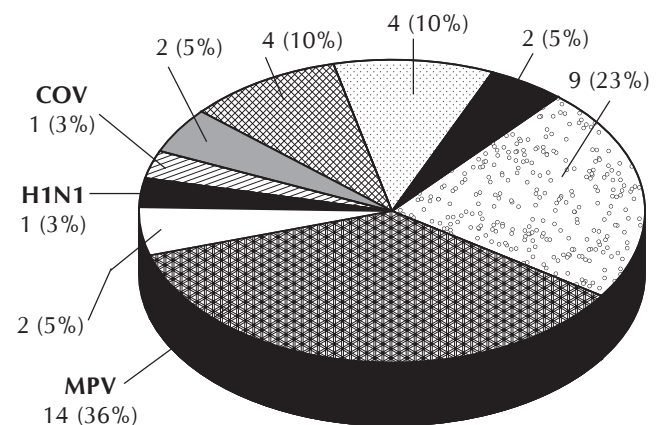


Figura 1. Virus detectados en la población. RT-PCR en tiempo real.

Antecedentes

Las técnicas moleculares para la detección de patógenos asociados a infecciones respiratorias han demostrado ser una herramienta de gran apoyo para proporcionar un diagnóstico oportuno, ya que presentan menor tiempo de espera y hacen posible una detección múltiple de agentes virales, tomando en cuenta incluso coinfecciones en el mismo paciente, ya que éstos pueden llegar a causar complicaciones y con ello alargar su estancia intrahospitalaria.

La identificación de VR es importante, ya que se ha observado su comportamiento en otras poblaciones; tal es el caso de Corzo y col. (2015), quienes realizaron la identificación por métodos de biología molecular y encontraron con mayor prevalencia el virus respiratorio sincitial A en la población de Bucaramanga, Colombia, durante diciembre de 2012 a diciembre de 2013. Asimismo, en Santander, España, se reportó la presencia de metapneumovirus, enterovirus, coronavirus humano y bocavirus.¹²

Galván y cols. (2015) realizaron la identificación y prevalencia de los virus respiratorios más comunes asociados a neumonías y observaron la presencia de coinfecciones virales.¹³ También Asner y cols. (2015) realizaron un estudio prospectivo con 142 pacientes pediátricos, en donde se encontraron coinfecciones de mayor gravedad en pacientes con problemas respiratorios.¹⁴

El objetivo de este trabajo tuvo la finalidad de identificar la prevalencia de los agentes virales asociados a enfermedades respiratorias en vías inferiores mediante una reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) en tiempo real.

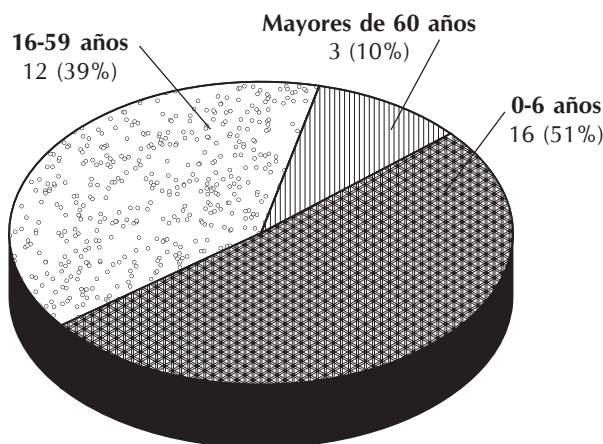


Figura 2. Estratificación por grupos de edad de los virus detectados en la población.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo para evaluar a pacientes hospitalizados de Medicina Interna y Pediatría del Hospital Juárez de México, donde se incluyó a pacientes con diagnóstico de infecciones respiratorias (neumonía y bronquitis), edad indistinta y sin tratamiento con antibióticos.

Se recolectaron 57 muestras de pacientes con IRBs; la extracción de ácidos nucleicos se realizó utilizando el kit comercial RTP® PATHOGEN KIT (Alemania). Para la identificación del panel viral se utilizó el kit comercial de Anyplex™ II RV16 (Korea), detección de 16 virus, mediante una RT-PCR en tiempo real.

RESULTADOS

Se colectaron 57 muestras biológicas de expectoración con trampa del Servicio de Medicina Interna y Pediatría del Hospital Juárez de México, de las cuales 27/57 fueron del género femenino y 30/57 del género masculino.

De las muestras analizadas se encontraron 31/57 que fueron positivas a virus respiratorios, de las cuales 14/31 corresponden a virus sincitial respiratorio A, 9/31 fueron positivos a virus sincitial respiratorio B y 4/31 positivos a rinovirus (Figura 1).

Después de identificar los virus más frecuentes en las muestras, se realizó una estratificación para ver el comportamiento en los diferentes grupos de edad (Figura 2), encontrándose con mayor frecuencia (16/31), virus en el grupo de 0-6 años, seguido del grupo (12/31) de 16 a 59 años y por último el grupo de los pacientes mayores de 60 años (3/31).

A continuación se identificaron los virus por grupos de edad, esto con la finalidad de ver la frecuencia de éstos. Cabe mencionar que en algunos grupos de edad se presen-

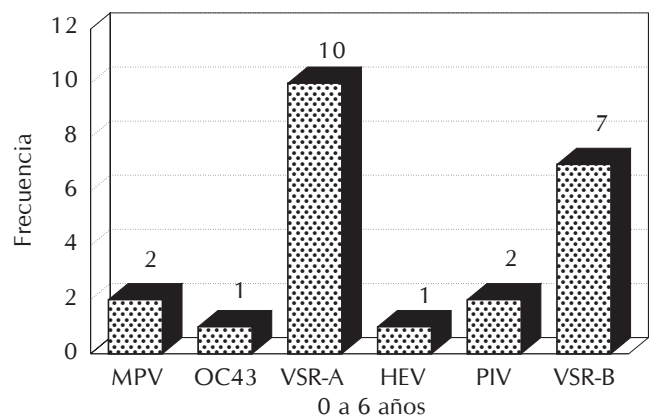


Figura 3. Virus detectados en el grupo de edad de 0 a 6 años.

taron coinfecciones entre virus. Para el grupo del rango de edad de 0 a 6 años, se encontraron 23 virus con coinfecciones incluidas, siendo con mayor frecuencia el VSR-A (10/23), seguido del VSR-B (7/23) (Figura 3).

El siguiente grupo en el que se identificó la frecuencia fue el de 16-59 años y se encontraron 14 virus, de igual manera presentando coinfecciones (Figura 4). Se encontró con mayor frecuencia el rinovirus (5/14), seguido del adenovirus (2/14) y parainfluenza (2/14).

Por último, en el grupo de pacientes mayores de 60 años, sólo se identificaron tres virus, de los cuales el que se presentó con mayor frecuencia fue el VSR-B (2/3), seguido del VSR-A (1/3) (Figura 5).

DISCUSIÓN

De acuerdo con estos resultados se observó que con respecto al género, se tiene un comportamiento similar a otros estudios, tal es el caso de Clemente y cols. (2012), donde se reportaron con mayor frecuencia muestras positivas en el género masculino.¹⁵ Otro resultado similar fue el de Esa y col. (2015), donde a partir de 324 pacientes, reportaron 210/324 positivos a algún agente patológico asociado a IRBs para el género masculino y sólo 114/324 para el género femenino, esto puede deberse a los diferentes niveles de esteroides sexuales entre un género y otro; otra causa que se le asocia a estos resultados es la diferencia entre la respuesta inmune de cada género, ya que se ha observado que las hembras de diferentes especies llegan a producir niveles más altos de inmunoglobulinas circulantes, y éstas típicamente presentan una respuesta inmune de tipo humoral más pronunciada en contra de infecciones.¹⁶

Después de ver el comportamiento en nuestra población con respecto al género, lo siguiente que se realizó fue la estratificación por edad, la cual tiene como objetivo

obtener un diagnóstico certero, con el cual se puede planificar las actividades de prevención y control de los distintos patógenos presentes, y esto tiene como base categorizar los grupos poblacionales de acuerdo con la edad.¹⁷

Para el caso de los pacientes pediátricos, los virus detectados con mayor frecuencia son: virus respiratorio sincitial (VRS), virus de influenza, virus parainfluenza y adenovirus (ADV), tal y como lo reportaron Hustedt y col. (2010).¹⁸ Aunado a esto, se han reportado coinfecciones virales, esto gracias a que con los actuales métodos se puede realizar la búsqueda simultánea de varios virus respiratorios en una misma reacción.¹⁹ En el presente trabajo el virus más frecuente en el grupo de 0-6 años fue el VRS-A, este hallazgo coincide con datos de la literatura internacional,²⁰ ya que este virus presenta características genotípicas que le dan plasticidad, lo cual le permite soportar cambios drásticos en sus proteínas de superficie, las cuales le dan ventajas evolutivas que le permiten modificar la respuesta inmune previamente generada y, de esta forma, circular en la población pediátrica. Además, tienen una marcada estacionalidad en clima templado, dando pie a que tengan un brote anual durante los meses de menor temperatura.²¹ En segundo lugar, el virus que se detectó fue el VRS-B, cuya presencia en este grupo pediátrico se debe a la transmisión intrafamiliar.²² Esto se relaciona con el hallazgo en nuestro estudio de que cerca de la mitad de los casos reportaba tener contacto intrafamiliar o cercano con personas agudamente enfermas. De acuerdo con lo descrito anteriormente, se puede afirmar que el VRS es uno de los agentes virales de mayor relevancia clínica en pediatría.²³

Para el caso del grupo de pacientes que están en el rango de edad de 16 a 59 años, el agente etiológico que más se observó en este trabajo fue el rinovirus, tal y como se ha reportado en enfermos crónicos y que presentan ataques asmáticos, en los cuales el rinovirus está implicado en el

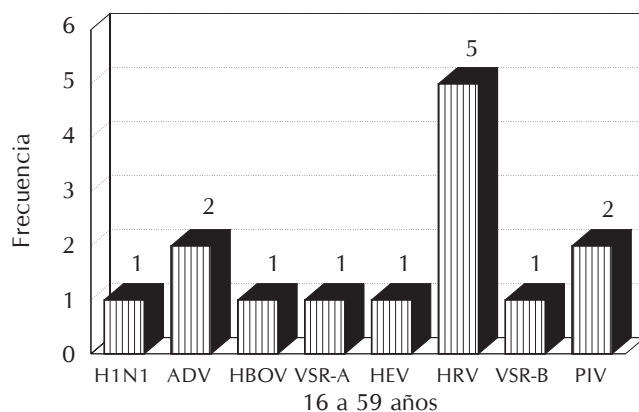


Figura 4. Virus detectados en el grupo de edad de 16 a 59 años.

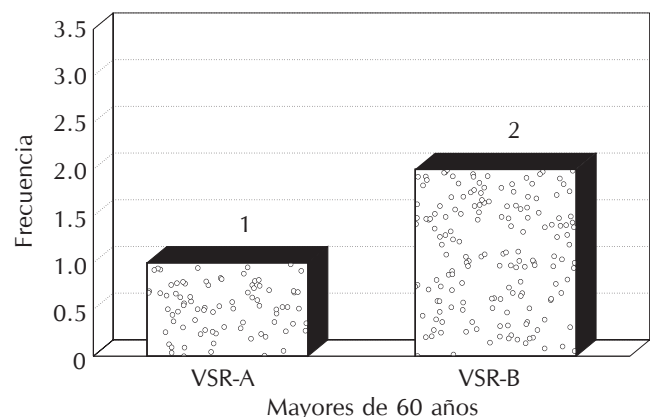


Figura 5. Virus detectados en el grupo de mayores de 60 años.



padecimiento.²⁴ Este virus se presenta en picos estacionales, principalmente entre septiembre y noviembre, transmitiéndose fácilmente por el contacto con las secreciones contaminadas.

En el grupo de mayores de 60 años, a pesar de ser pocas muestras, se obtuvieron resultados positivos para VSR-B, los cuales fueron similares a otros trabajos previos, donde se encontró que este grupo de pacientes es el más afectado por este virus (hasta 25%).²⁵ Además, la incidencia de VSR en pacientes asmáticos evidencia que este agente pudiera jugar un papel importante como factor de riesgo en la patogénesis del asma bronquial en el adulto.²⁶

CONCLUSIONES

La identificación correcta del agente causal en este tipo de pacientes es de suma importancia, ya que se evitan gastos innecesarios a los centros hospitalarios, además de someter al paciente a diversos tratamientos que generan, a lo largo, resistencia y fallas en la respuesta. El saber la prevalencia de los diversos subtipos virales por grupo de edad ayudará a realizar una búsqueda más dirigida y por lo tanto un gasto menor.

REFERENCIAS

1. Neizil KM, Maynadrd C, Griffin MR, Heagerty P. Winter respiratory viruses and health care use: a population-based study in the northwest United States. *Clin Infect Dis* 2003; 37(2): 201-7.
2. Arnold JC, Singh KK, Spector SA, Sawyer MH. Undiagnosed respiratory viruses in children. *Pediatrics* 2008; 121(3): e631-e637.
3. Gonzales R, Malone DC, Maselli JH, Sande MA. Excessive antibiotic use for acute respiratory infections in the United States. *Clin Infect Dis* 2001; 33(6): 757-62.
4. Barenfanger J, Drake C, Leon N, Mueller T, Trout T. Clinical and financial benefits of rapid detection of respiratory viruses: an outcomes study. *J Clin Microbiol* 2000; 38(8): 2824-8.
5. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(36): 12891-6.
6. Louie JK, Hacker JK, Gonzales R, Mark J, Maselli JH, Yagi S, et al. Characterization of viral agents causing acute respiratory infection in a San Francisco University Medical Center Clinic during the influenza season. *Clin Infect Dis* 2005; 41(6): 822-8.
7. Lozano JM. Infección respiratoria aguda en niños. *Rev Colomb Neumol* 1996; 8(3): 133-45.
8. Henderson FW, Clyde WA, Collier AM, Denny FW, Senior RJ, Sheaffer CI, et al. The etiologic and epidemiologic spectrum of bronchiolitis in pediatric practice. *J Pediatr* 1979; 95(2): 183-90.
9. Van den Hoogen BG, Osterhaus DM, Fouchier RA. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(1 Suppl.): S25-S32.
10. Coiras MT, Aguilar JC, García ML, Casas I, Perez-Brena P. Simultaneous detection of fourteen respiratory viruses in clinical specimens by two multiplex reverse transcription nested-PCR assays. *J Med Virol* 2004; 72(3): 484-95.
11. Brittain-Long R, Nord S, Olofsson S, Westin J, Anderson LM, Lindh M. Multiplex real-time PCR for detection of respiratory tract infections. *J Clin Virol* 2008; 41(1): 53-6.
12. Corzo JRG, Velásquez JN, Rugeles CIG, Rodríguez L, Machuca M, Prieto AT, et al. Prevalencia de virus respiratorios en población menor de 5 años con infección respiratoria aguda en Bucaramanga y las provincias Comunera y de García Rovira, Santander, diciembre del 2012 a diciembre del 2013. *latreia* 2015; 27(4-S): 17.
13. Galván JM, Rajas O, Aspa J. Revisión sobre las infecciones no bacterianas del aparato respiratorio: neumonías víricas. *Archivos de Bronconeumología* 2015; 51(11): 590-7.
14. Asner SA, Rose W, Petrich A, Richardson S, Tran D. Is virus coinfection a predictor of severity in children with viral respiratory infections? *Clin Microbiol Infect*. Epub 2014.
15. Clemente I, Mañas MD, Alarcón JM, Monroy C, Sidahi M, Yanes J. Infecciones respiratorias: etiología y patrones de resistencia en el hospital general de Ciudad Real. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25(1): 31-6.
16. Essa S, Owayed A, Altawalah H, Khadadah M, Behbehani N, Al-Nakib W. Mixed Viral Infections Circulating in Hospitalized Patients with Respiratory Tract Infections in Kuwait. *Adv Virol*. Epub 2015.
17. García Pérez C, Alfonso Aguilar P. Estratificación epidemiológica de riesgo. *Revista Archivo Médico de Camagüey* 2013; 17(6): 762-83.
18. Hustedt J, Vazquez M. The changing face of pediatric respiratory tract infections: how human metapneumovirus and human bocavirus fit into the overall etiology of respiratory tract infections in young children. *Yale J Biol Med* 2010; 83(4): 193-200.
19. Bonzel L, Tenenbaum T, Schrotten H, Schildgen O, Schweitzer-Krantz S, Adams O. Frequent detection of viral coinfection in children hospitalized with acute respiratory tract infection using a real-time polymerase chain reaction. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27(7): 589-94.
20. Speranza AM, Clary AL, Pereira T, Sapoznicoff L, Schenone N. Estudio multicéntrico de infecciones respiratorias agudas bajas en niños hospitalizados menores de 2 años. *Arch Argent Pediatr* 2003; 101(5): 365-73.
21. Lucion MF, Juárez MDV, Viegas M, Castellano V, Romanin VS, Grobaporto M, et al. Virus respiratorio sincicial: Patrón



- clínico epidemiológico en niños internados en un hospital pediátrico durante los años 2000-2013. Arch Argent Pediatr 2014; 112(5): 397-404.
22. Martínez-Roig A, Salvadó M, Caballero-Rabasco M, Sánchez-Buenavida A, López-Segura N, Bonet-Alcaina M. Coinfección vírica en las infecciones respiratorias infantiles. Archivos de Bronconeumología 2015; 51(1): 5-9.
23. Rosete Olvera DP, Archundia Sánchez FJ, Cabello Gutiérrez C, Manjarrez Zavala ME. Patogenia de las infecciones respiratorias por virus. Rev Inst Nal Enf Resp Mex 2002; 15(4): 239-54.
24. Martínez D. Rinovirus: ¿algo más que un resfrío común? Medwave 2010; 10(05): e4523.
25. Rohde G, Wiethege A, Borg I, Kauth M, Bauer TT, Gillissen A, et al. Respiratory viruses in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease requiring hospitalisation: a case-control study. Thorax 2003; 58(1): 37-42.
26. Rabagliati R, Serri M, Montecinos L, Azocar T, Ferrés M. Utilidad de la reacción de polimerasa en cadena en tiempo real en el diagnóstico de infecciones por virus respiratorio sincitial en adultos. Rev Chilena Infectol 2007; 24(6): 441-5.

Solicitud de sobreiros:

Dra. Mónica Sierra-Martínez
Unidad de Genética y Cáncer
Hospital Juárez de México
Secretaría de Salud
Av. Instituto Politécnico Nacional, Núm. 5160
Col. Magdalena de las Salinas
C.P. 07760. México, D.F.
Correo electrónico: sierramtmz@gmail.com