

## Artículo original

## Nuevos virus respiratorios en niños de 2 meses a 3 años con sibilancias recurrentes

### *New respiratory viruses in children 2 months to 3 years old with recurrent wheeze*

Dr. Alberto F. Maffey\*, Dra. Carolina M. Venialgo\*, Dra. Paola R. Barrero\*\*#, Bioq. Valentina A. Fuse\*\*, Bioq. María de los A. Márques\*\*, Dra. Mariana Saia\*, Dra. Analía Villalba\*, Dr. Alejandro M. Teper\* y Dra. Alicia S. Mistchenko\*\*\*\*

#### RESUMEN

**Introducción.** Los virus respiratorios son los agentes que con más frecuencia desencadenan sibilancias, especialmente, el virus sincicial respiratorio en los lactantes y los rinovirus en niños mayores.

**Objetivos.** Conocer la prevalencia y la circulación estacional de los virus respiratorios nuevos y tradicionales en lactantes y niños pequeños con sibilancias recurrentes.

**Material y métodos.** Estudio de corte transversal, prospectivo y descriptivo. Se incluyeron pacientes de 2 meses a 3 años con sibilancias recurrentes y factores de riesgo para desarrollar asma hospitalizados por obstrucción bronquial. Se obtuvo una muestra de secreciones respiratorias por aspirado nasofaríngeo y se utilizó la técnica de inmunofluorescencia para detectar Virus Sincicial Respiratorio, Adenovirus, Parainfluenza 1, 2 y 3 e Influenza A y B, y la Reacción en Cadena de la Polimerasa para determinar Rinovirus, Enterovirus, Virus Sincicial Respiratorio, Bocavirus, Adenovirus y Coronavirus.

**Resultados.** Se evaluaron 119 pacientes (61 femeninos), edad ( $x \pm DE$ )  $1,5 \pm 0,9$  años. Los días de internación y de requerimientos de oxígeno fueron ( $x \pm DE$ ):  $6,3 \pm 2,9$  y  $4,4 \pm 2,7$  respectivamente. Se hallaron 102 (86%) casos positivos. El 55% de los virus se detectó por Inmunofluorescencia y el 45% por Reacción en Cadena de la Polimerasa. El 75% de las muestras respiratorias presentó un solo agente viral, el 22% una coinfección doble y el 3% una coinfección triple. Las prevalencias de los virus respiratorios detectados fueron: Virus Sincicial Respiratorio 55 (43%); Rinovirus 30 (23%); Metapneumovirus 13 (10%); Influenza A 8 (6%), Enterovirus 6 (5%); Bocavirus 6 (5%); Adenovirus 4 (3%); Coronavirus 3 (2%); Parainfluenza 1: 2 (1%); Influenza B, 1 (1%) y Parainfluenza 3: 1 (1%).

**Conclusiones.** Los lactantes y niños pequeños con sibilancias recurrentes hospitalizados por obstrucción bronquial presentan una elevada prevalencia de virus respiratorios. Los picos de internaciones coinciden con los picos de mayor circulación viral. **Palabras clave:** virus respiratorios, asma, sibilancias recurrentes, aspirado nasofaríngeo.

**Objective.** To evaluate the prevalence and epidemiological features of newer and traditional respiratory viruses in infants and young children with recurrent wheeze.

**Material and methods.** Cross sectional, prospective and descriptive study. Patients with recurrent wheeze and risk factors for asthma, age 2 months to 3 years, hospitalized with bronchial obstruction were included. On admission a respiratory sample was obtained through a nasopharyngeal aspirate. Immunofluorescence was performed to detect Respiratory Syncytial Virus, Adenovirus, Parainfluenza 1, 2, 3 and Influenza A and B. Polymerase Chain Reaction was used to detect Rhinovirus, Enterovirus, Metapneumovirus, Bocavirus, Adenovirus and Coronavirus.

**Results.** 119 patients (61 female), age ( $x \pm DS$ )  $1.5 \pm 0.9$  years were included. Days on admission and on oxygen requirement were, respectively ( $x \pm DS$ ):  $6.3 \pm 2.9$  y  $4.4 \pm 2.7$ . One hundred and two (86%) positive cases were diagnosed. Fifty five percent of the viruses were detected by Immunofluorescence and 45% by Polymerase Chain Reaction. A single virus was present in 75% of the samples, 22% had a double co-infection and 3% a triple virus co-infection. Overall, the prevalence of detected respiratory viruses was: Respiratory Syncytial Virus 55 (43%); Rhinovirus 30 (23%); Metapneumovirus 13 (10%); Influenza A 8 (6%); Enterovirus 6 (5%); Bocavirus 6 (5%); Adenovirus 4 (3%); Coronavirus 3 (2%); Parainfluenza 1: 2 (1%); Influenza B, 1 (1%) and Parainfluenza 3: 1 (1%).

**Conclusions.** Infants and young children with recurrent wheeze and risk factors for asthma hospitalized for bronchial obstruction present a high prevalence of respiratory viruses. Hospital admissions were more frequent during months of higher respiratory circulation.

**Keywords:** respiratory viruses, asthma, recurrent wheeze, nasopharyngeal aspirate.

\* Centro Respiratorio.

\*\* Laboratorio de Virología. Hospital de Niños

"Dr. Ricardo Gutiérrez".

Buenos Aires, Argentina.

# CONICET

\*\* Comisión de investigaciones científicas de la provincia de Buenos Aires.

Correspondencia:

Dr. Alberto Maffey  
amaffey@gmail.com

Recibido: 20-12-07

Aceptado: 25-3-08

#### SUMMARY

**Introduction.** Respiratory viruses are associated with respiratory exacerbations, more frequently Respiratory Syncytial Virus in infants and Rhinovirus in children.

#### INTRODUCCIÓN

La obstrucción bronquial constituye una de las principales causas de consulta ambulatoria y de internación en lactantes y niños pequeños.<sup>1</sup> Los principales estu-

dios de cohorte que tuvieron como objetivo conocer la historia natural del asma bronquial informan que, para la edad de 6 años, el 50% de los niños ha tenido al menos un episodio de sibilancias, de los cuales solamente el 25% va a desarrollar asma bronquial.<sup>2</sup> Por lo tanto, esta etapa es un período en el que todavía no resulta posible determinar si el niño afectado desarrollará asma o tendrá sólo episodios transitorios de sibilancias.<sup>3,4</sup> Se comprende así que la obstrucción bronquial recurrente que afecta a los lactantes y niños pequeños representa diversos fenotipos de comportamiento y pronóstico muy diferente.<sup>5</sup> Además, la etapa preescolar es el período de la infancia con la tasa de incidencia de asma más elevada y, por lo tanto, una etapa en la que el papel de las infecciones virales en su patogénesis podría ser de máxima importancia.<sup>6</sup>

Tradicionalmente, diferentes agentes como Virus Sincicial Respiratorio (VSR), Adenovirus (Ad), Influenza (INF) A y B, y Parainfluenza (PI) 1, 2 y 3, han sido detectados en secreciones respiratorias por la técnica de inmunofluorescencia (IF) y asociados a la etiología de la infección respiratoria aguda.<sup>7</sup> En los últimos años, con el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos basados en la biología molecular, se han podido identificar otros agentes, como Metapneumovirus (MNV), Rinovirus (RV), Enterovirus (EV), Coronavirus (CoV) y Bocavirus (BoV), agrupados bajo la denominación común de "nuevos virus respiratorios". Sin embargo, por estudios en muestras de suero y en cultivos celulares, la presencia de RV, EV y CoV OC43 y 229E se conoce desde el año 1960, y solamente MNV, BoV y CoV NL63, NH y HKU han sido descritos en los últimos 5 años.<sup>8</sup> Por lo tanto, la denominación de nuevos virus respiratorios obedece a la reciente disponibilidad de técnicas para su detección en la práctica cotidiana y no por tratarse de virus emergentes, como sí son el de la Influenza aviaria y el del Síndrome respiratorio agudo grave (SARS por su sigla en inglés).

Considerando la descripción de los nuevos virus mencionados, la relación entre las infecciones virales y el desarrollo de asma, y los progresos recientes en la síntesis de antivirales,<sup>9</sup> conocer la prevalencia y la epidemiología de los virus respiratorios resulta de utilidad a fin de implementar estrategias de prevención y tratamiento destinadas a disminuir la morbilidad que ocasionan. Además, en nuestro medio se desconoce la importancia que revisten los diferentes virus respiratorios como agentes desencadenantes de sibilancias en las distintas etapas de la infancia. Por ello, se efectuó un estudio de corte transversal, prospectivo y descrip-

tivo, con el objetivo de conocer la prevalencia y los patrones de circulación de los virus respiratorios tradicionales y de los denominados nuevos virus respiratorios en lactantes y niños pequeños con sibilancias recurrentes y factores de riesgo para asma hospitalizados por obstrucción bronquial.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez" de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires durante un año calendario comprendido entre el 01 de enero al 31 de diciembre de 2006. El protocolo fue aprobado por los Comités de Ética, Docencia e Investigación del citado nosocomio.

### Criterios de inclusión

Se incluyeron pacientes de 2 meses a 3 años de edad hospitalizados por obstrucción bronquial con hipoxemia, definida como una saturación arterial de oxígeno igual o menor a 92% respirando aire ambiental, y que presentaban factores de riesgo para desarrollar asma bronquial, a saber: dos o más episodios previos de obstrucción bronquial diagnosticados por un médico, rinitis fuera de los cuadros de infección viral, eccema atópico o el antecedente de asma, rinitis alérgica o eccema atópico en padre, madre o hermanos.<sup>10</sup> Los pacientes debían presentar adecuada maduración y desarrollo.

Se decidió realizar este estudio en niños con sibilancias recurrentes con una edad comprendida entre los 2 meses y los 3 años para evitar la inclusión tanto de pacientes con bronquiolitis enfermedad como de aquellos que ya presentaban un diagnóstico establecido de asma bronquial.

### Criterios de exclusión

Se excluyeron del estudio los pacientes que presentaban enfermedad de base anatómica, metabólica o inmunológica y los afectados por enfermedad pulmonar crónica (displasia broncopulmonar, fibrosis quística y bronquiolitis obliterante).

### Registro de datos clínicos y epidemiológicos

Se registraron los antecedentes perinatales (semanas de gestación, peso de nacimiento, requerimientos de oxígeno o de asistencia respiratoria mecánica), personales (edad al presentar el primer episodio de obstrucción bronquial, número de episodios y de internaciones en los últimos doce meses), familiares (asma, rinitis alérgica o eczema atópico en padre, madre o hermanos) y epidemiológicos (tabaquismo pasivo, medio viral positivo) de los pacientes incluidos en una planilla diseñada

para tal efecto. Se definió como medio viral positivo a la presencia de una infección respiratoria aguda alta o baja presente en alguno de los convivientes al momento de la internación. Posteriormente, se registró información sobre la evolución clínica (días de internación, de requerimiento de oxígeno), las complicaciones presentadas (neumonía, atelectasia, neumotórax y asistencia respiratoria mecánica) y el tratamiento requerido (broncodilatadores, corticoides sistémicos y antibióticos) durante la internación. Se consignaron además los resultados de la caracterización de los 12 virus respiratorios estudiados: VSR, Ad, INF A y B, PI 1, 2 y 3, MNV, RV, EV, CoV y BoV.

### Análisis de datos

La información obtenida se almacenó en una base de datos y fue analizada y procesada con los programas EPI 2000, MS EXCEL y R v 2.6.2.

Se utilizó la prueba de la ji al cuadrado ( $\chi^2$ ) y la prueba de Student para variables categóricas con distribución normal o la prueba de Wilcoxon cuando no se pudo asumir distribución normal. El grado de probabilidad para determinar significación estadística fue de 0,05.

### Recolección y procesamiento de las muestras para examen virológico

Se obtuvo un aspirado nasofaríngeo para cada paciente mediante una sonda nasogástrica K-30 (BSN 30®, Laboratorio Barcat, Buenos Aires, Argentina). La muestra se guardó refrigerada a 4 °C hasta su envío al Laboratorio de Virología para realizar la determinación de los 12 virus respiratorios por técnicas de IF y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por su sigla en inglés).

Las secreciones nasofaríngeas de los pacientes incorporados fueron enviadas y procesadas en el día por técnicas de IF para detectar VSR, Ad, PI 1, 2 y 3, e INF A y B (Light Diagnostics, Chemicon Int., Temecula, CA, EE.UU.). Las secreciones fueron conservadas a -20 °C para su posterior estudio por PCR. Brevemente, se utilizaron equipos comerciales para obtener la amplificación de ácidos nucleicos provenientes de virus ADN y ARN mediante PCR y PCR precedida por transcripción inversa (GoTaq®, Promega, Madison, WI, EE.UU.; OneStep RT-PCR, QIAGEN, Valencia, CA, EE.UU.). Los virus fueron determinados en experimentos separados de acuerdo a los protocolos descriptos en la bibliografía para Adenovirus, Bocavirus, Coronavirus, Influenza, Metapneumovirus, RSV, Enterovirus y Rinovirus.<sup>11-18</sup>

Se consideró caso positivo a la detección de un

agente viral por al menos una de las dos técnicas diagnósticas (IF y PCR) ensayadas.

Se registró el intervalo transcurrido entre el comienzo de la exacerbación respiratoria, la internación y la toma del aspirado nasofaríngeo.

## RESULTADOS

Durante el período de estudio ingresaron al hospital 126 pacientes que cumplían los criterios de inclusión. La familia de un paciente declinó la invitación a participar, otro no estuvo acompañado por sus padres y 5 pacientes fueron eliminados del estudio una vez que se decidiera iniciar un plan de estudios para evaluar diagnósticos diferenciales de los episodios de sibilancias. Finalmente, 119 pacientes quedaron disponibles para su posterior análisis.

### Características clínicas y epidemiológicas

De los 119 pacientes estudiados, 26 (22%) provenían de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) y 93 (78%) del conurbano bonaerense. No se observaron diferencias significativas en los días de internación, días de requerimiento de oxígeno o complicaciones entre los pacientes provenientes de la CABA y los provenientes del conurbano bonaerense ( $p=0,42$ ). Las características demográficas y clínicas de la población estudiada se observan en la *Tabla 1*.

Noventa y tres pacientes (78%) habían presentado su primer episodio de sibilancias durante el primer año de vida; 21 (18%) lo habían presentado durante el segundo año y 5 (4%) durante el tercer año de vida. De los 119 pacientes, 58 (49%) habían presentado al menos una internación previa por un episodio de sibilancias.

TABLA 1. Características demográficas y clínicas de la población

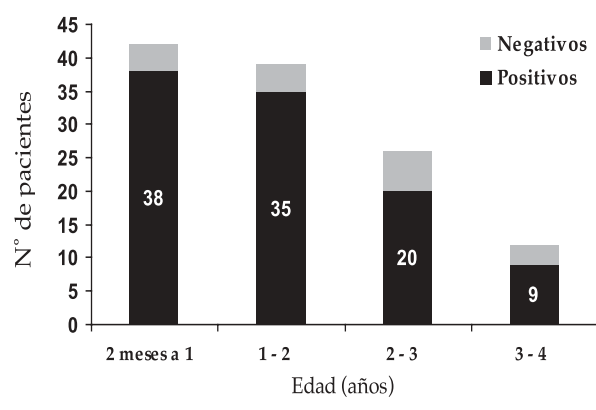
n	119
Sexo femenino, n (%)	61 (51%)
Edad en años (x ± DE)	1,5 ± 0,9
Peso de nacimiento (kg, x ± DE)	3,2 ± 0,6
Antecedentes familiares de atopía, n (%)	98 (83%)
Antecedentes personales de atopía, n (%)	75 (63%)
Tabaquismo pasivo, n (%)	64 (55%)
Días de internación (x ± DE)	6,3 ± 2,9
Días de oxígeno (x ± DE)	4,4 ± 2,7
Complicaciones, n (%)	30 (25%)

El intervalo transcurrido entre el comienzo de la exacerbación respiratoria y la hospitalización, entre el comienzo de la exacerbación y la obtención del aspirado nasofaríngeo, y entre la hospitalización y la obtención del aspirado nasofaríngeo fue de ( $x \pm DE$ ):  $3,5 \pm 2,4$  días;  $4,9 \pm 2,5$  días y  $1,4 \pm 1,1$  días, respectivamente.

Las internaciones, si bien se registraron durante los 12 meses del año, presentaron una distribución estacional. Su número comenzó a incrementarse con la llegada del otoño y fueron más frecuentes durante los meses de invierno.

En el examen físico de ingreso, 97% ( $n=115$ ) de los pacientes presentaba tos, 94% ( $n=112$ ) rinorrea, 77% ( $n=92$ ) fiebre  $\geq 38^\circ\text{C}$ , 19% ( $n=21$ ) conjuntivitis y 19% ( $n=21$ ) otitis media aguda. Todos los pacientes recibieron tratamiento con oxígeno a través de cánula nasal o máscara facial para alcanzar una  $\text{SaO}_2 \geq 97\%$ , broncodilatadores de acción corta (salbutamol nebulizado en dosis de 0,25 mg/kg o en aerosol de dosis medida de 100  $\mu\text{g}$ /dosis con aerocámara) y corticoides sistémicos (hidrocortisona 5-10 mg/kg/dosis; dexametasona a 0,25 mg/kg/dosis; o metilprednisona si el paciente presentaba buena tolerancia gástrica y evolucionaba favorablemente en dosis de 1-2 mg/kg/día). En 30 pacientes (25%) se registraron complicaciones asociadas al cuadro de obstrucción bronquial: en 13 (43%) casos se documentó una atelectasia y en 17 (57%) un infiltrado en la radiografía de tórax que fue interpretado y medicado como una neumonía bacteriana. No hubo diferencias significativas al evaluar la presencia de complicaciones entre los diferentes grupos de edad, los diferentes virus respiratorios y la ocurrencia de coinfecciones ( $p=0,91$ ,  $p=0,99$  y  $p=0,71$  respectivamente).

GRÁFICO 1. Número total de pacientes ( $n=119$ ) y de casos positivos y negativos agrupados por edad



## Detección de virus respiratorios

Se detectaron 102 (86%) casos positivos del total de 119 pacientes que conformaban la población de estudio (Gráfico 1 y Tabla 2). La muestra obtenida permitió la detección de 129 virus respiratorios desglosados de la siguiente manera: 71 (55%) por técnica de IF y 58 (45%) por técnica de PCR. De las 69 muestras respiratorias negativas por IF, 20 (29%) fueron positivas por PCR: VSR: 13; INF A: 4; Ad: 2 e INF B: 1. En 77 (75%) muestras respiratorias se detectó como único agente viral asociado a la exacerbación: VSR: 55; RV: 30; MNV: 10; INF A: 6; BoV: 5; EV: 4; Ad: 4; PI 1: 2 y PI 3: 1. En 25 pacientes se detectaron coinfecciones: en 23 casos (22%) coinfecciones dobles y en 2 casos (3%) coinfecciones triples. Las 23 coinfecciones dobles estuvieron constituidas por: VSR-RV 5 casos; VSR-EV 3 casos; VSR-MNV 3 casos; INF A-RV 3 casos; VSR-BoV 2 casos; RV-CoV 2 casos; VSR-INF B 1 caso; RV-MNV 1 caso; RV-BoV 1 caso; EV-MNV 1 caso y CoV-BoV 1 caso. Las 2 coinfecciones triples estuvieron constituidas por: VSR-INF A-EV e INF A-RV-BoV. No se detectó ningún caso de PI 2.

Los pacientes con infección por RV presentaron un comportamiento diferente de los infectados por otros virus con respecto a la edad, los días de evolución de la crisis de asma hasta la internación y la evolución clínica. La edad decimal de los pacientes con RV fue significativamente mayor

TABLA 2. Virus respiratorios detectados solos y en coinfección en las muestras de secreciones respiratorias obtenidas por aspirado nasofaríngeo en la población del estudio por una de las técnicas ensayadas (PCR e IF)

Virus	solos (%)	en coinfección (%)	total (%)
VSR	40 (52)	15 (29)	55 (43)
RV	17 (22)	13 (25)	30 (23)
MNV	8 (10)	5 (9,5)	13 (10)
INF A	3 (4)	5 (9,5)	8 (6)
EV	1 (1,3)	5 (9,5)	6 (5)
BoV	1 (1,3)	5 (9,5)	6 (5)
Ad	4 (5)	0	4 (3)
CoV	0	3 (6)	3 (2)
PI 1	2 (2,8)	0	2 (1)
INF B	0	1 (2)	1 (1)
PI 3	1 (1,6)	0	1 (1)
<b>Total (%)</b>	<b>77 (100)</b>	<b>52 (100)</b>	<b>129 (100)</b>

Ad: Adenovirus; BoV: Bocavirus; CoV: Coronavirus; EV: Enterovirus; MNV: Metapneumovirus humano; INF A: Influenza A; INF B: Influenza B; PI 1: Parainfluenza 1; PI 2: Parainfluenza 2; PI 3: Parainfluenza 3; RV: Rinovirus; VSR: Virus Sincial Respiratorio.



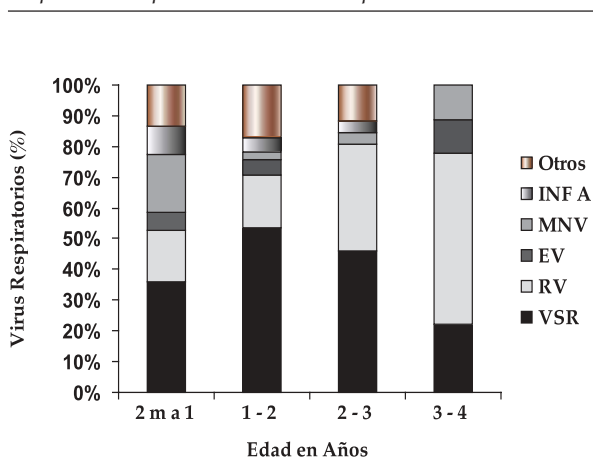
que la edad del resto de los pacientes (2,2 contra 1,4 años,  $p=0,0012$ ). Los días de evolución de la crisis de asma, los días de internación y los días de requerimiento de oxígeno fueron significativamente menores en los pacientes con infección por RV que en el resto de los niños (1,5 contra 3 días,  $p=0,00056$ ; 4,7 contra 6,5 días,  $p=0,0081$  y 3,1 contra 4,7 días,  $p=0,00635$ ), respectivamente. En la *Tabla 3* se observan las principales características epidemiológicas y clínicas que presentaban los pacientes con infección por VSR, RV y en coinfección. El *Gráfico 2* muestra la distribución de los diferentes virus respiratorios según grupos etarios.

Tabla 3. Principales características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con infección por VSR, RV y en coinfección

	VSR (n= 36)	RV (n= 16)	coinfección (n= 33)
Edad, años (x ± DE)	1,3 ± 0,8	2,2 ± 0,9	1,2 ± 0,8
Antecedentes de atopía	32/36 (89%)	13/16 (81%)	28/33 (85%)
Tabaquismo pasivo	19/36 (53%)	8/16 (50%)	22/34 (71%)
Días de evolución de la crisis	3,8 ± 2,7	1,5 ± 1	4,1 ± 2,5
Días de internación	7,1 ± 3,7	4,5 ± 2,2	6,2 ± 2
Días de oxígeno	5,4 ± 3,6	2,8 ± 1,8	4,2 ± 2
Complicaciones	10/35 (28%)	4/16 (25%)	7/33 (21%)

VSR: Virus Sincicial Respiratorio; RV: Rinovirus.

Gráfico 2. Distribución de los diferentes virus respiratorios por grupos de edad en lactantes y niños pequeños hospitalizados por obstrucción bronquial



VSR: Virus Sincicial Respiratorio; RV: Rinovirus; EV: Enterovirus; MNV: Metapneumovirus humano; INF A: Influenza A. Otros: suma de Ad, INF B, PI 1 y 3, CoV y BoV. m: meses.

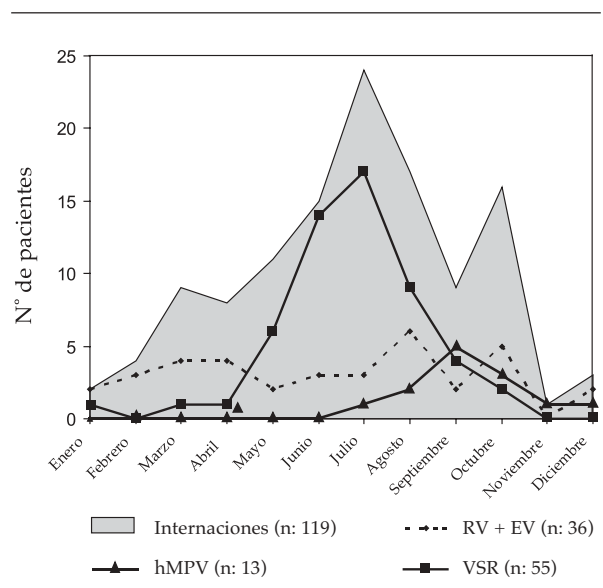
### Circulación de los virus respiratorios

El patrón de circulación estacional fue variable para cada virus respiratorio. El VSR presentó un patrón estacional de circulación como habíamos observado previamente en un estudio generalizado.<sup>19</sup> Los Picornavirus (RV + EV) mostraron un patrón endémico de circulación a lo largo de todo el período, con dos picos menores, uno en otoño y otro en primavera, siendo el MNV el virus de mayor incidencia en esta última estación. Los 5 casos de BoV registrados se detectaron entre los meses de abril a octubre y los 3 de CoV durante el mes de octubre. En la *Figura 1* se observa la distribución estacional de VSR, Picornavirus y MNV integrada junto a las internaciones registradas durante el año de estudio.

### DISCUSIÓN

El presente estudio demostró la presencia de al menos un virus respiratorio en el 86% de los pacientes estudiados. Los resultados de esta investigación avalan la participación y la importancia de los virus respiratorios nuevos y los tradicionales como causa de reagudización respiratoria en lactantes y niños pequeños hospitalizados. Las primeras publicaciones que estudiaron, con métodos de detección convencionales, la asociación entre infecciones virales y sibilancias recurrentes, detectaron virus respiratorios en menos del 25% de los pacientes evaluados.<sup>20</sup> Sin embargo, investigacio-

Figura 1. Distribución de las internaciones y circulación estacional de los principales virus respiratorios detectados durante el año de estudio



nes más recientes con técnicas moleculares, como la PCR, demostraron que 85-90% de los episodios de sibilancias en lactantes y niños son desencadenados por virus respiratorios.<sup>21</sup>

La aplicación de la técnica de PCR permitió la detección de RV, EV, MNV, BoV y CoV, agentes que hasta el momento no pueden ser identificados por la técnica de IF. Dicha herramienta diagnóstica que se destaca por su elevada sensibilidad para el estudio etiológico de las infecciones virales, contribuyó a identificar el 45% de los virus respiratorios de la serie.<sup>22</sup> Es importante mencionar que el 29% de las muestras respiratorias negativas por la técnica de IF resultaron positivas por técnicas de PCR, destacándose la detección de 13 casos de VSR. La técnica de IF es ampliamente usada como diagnóstico rápido para detectar, en la mayor proporción de los casos, antígenos virales en pacientes que cursan una infección viral activa. La técnica PCR permite detectar secuencias de ADN con mayor sensibilidad, por lo que sus resultados deben complementarse con el criterio clínico a fin de evitar el informe de falsos casos positivos cuando el genoma del virus se encuentre fehacientemente presente en la muestra analizada, pero la carga viral hallada no sea lo suficientemente alta como para causar enfermedad.

El VSR ha sido el agente viral más frecuente, correspondió al 35% de los casos positivos detectados y concordó con el brote anual de bronquiolitis. Su presencia es habitual en lactantes, pero puede desencadenar sibilancias y reagudizaciones de asma a cualquier edad.<sup>23</sup>

Los RV, que siguen en frecuencia al VSR y son responsables del primer pico de internaciones en otoño, han sido detectados en el 23% de los pacientes; su prevalencia es mayor a medida que aumenta la edad de la población estudiada. Así, en el grupo de 3-4 años, el 65% de los episodios de sibilancias son desencadenados por RV y EV, y sólo en un 22% por VSR. No obstante, es importante conocer que ambos agentes pueden ocasionar obstrucción bronquial a cualquier edad. El hallazgo de RV como desencadenante de sibilancias en niños menores de 4 años adquiere mayor importancia a la luz de que numerosas publicaciones informan que los pacientes con infecciones por este agente presentan mayor riesgo de desarrollar asma bronquial que los afectados por VSR.<sup>24</sup> Se conoce, además, que los asmáticos presentan una alteración de su inmunidad innata caracterizada por una respuesta deficiente de interferón, lo cual dificulta la eliminación de RV y favorece su replicación en las células del aparato respiratorio,<sup>25</sup> lo cual explica su mayor

predisposición a presentar infecciones por ese virus. Dicha infección actuaría como un marcador que permitiría identificar a los pacientes con un riesgo aumentado para desarrollar asma.

Como se observa en la *Tabla 3* y al igual que lo descrito en la bibliografía,<sup>24</sup> los pacientes infectados por RV presentan al momento de la internación un tiempo significativamente menor de evolución de la crisis de asma y una edad media mayor que los niños infectados por otros virus respiratorios. Su capacidad de afectar a pacientes que potencialmente pueden desarrollar asma bronquial y, por lo tanto, presentar una respuesta favorable al tratamiento con broncodilatadores y corticoides, sumado al mayor calibre de su vía aérea determinado por su mayor edad, podría explicar por qué los niños infectados por RV presentan un número menor de días de internación y de requerimiento de oxígeno.

La presencia de MNV se detectó en el 10% de los casos positivos, valor similar al comunicado en la bibliografía.<sup>26</sup> Como se observa en la *Figura 1*, la circulación de este virus respiratorio es mayor en primavera, predomina en los meses de septiembre y octubre y alcanza su pico máximo cuando empieza a declinar la epidemia de VSR.

La presente investigación describe la circulación de BoV por primera vez en nuestro país: fue detectado en 6 pacientes (5% de los casos positivos); en 5 de ellos, en coinfección con otro virus respiratorio. Diferentes publicaciones resaltan su papel como agente desencadenante de sibilancias,<sup>27</sup> y recientemente se describió su excreción por vía fecal, lo que favorecería la aparición de brotes intrahospitalarios de infección respiratoria y de gastroenteritis.<sup>28</sup>

Otro hallazgo importante fue la detección de EV en el 5% de los pacientes, ya que habitualmente se lo describe como responsable de infección del sistema nervioso. Comparte con BoV la característica de que su excreción por vía fecal y oral puede durar semanas y de presentarse en coinfección con otro virus respiratorio.<sup>29</sup>

Si bien los CoV han adquirido fama mundial como el agente etiológico responsable del SARS, este virus es conocido por causar resfrío común y recientemente se lo ha asociado a la enfermedad de Kawasaki.<sup>30</sup> En los últimos años fueron identificadas 3 nuevas cepas de CoV: CoV-NL63 (van der Hoek, Holanda, 2004); CoV-NH (Esper, New Haven, 2005) y CoV-KU1 (Woo, Hong Kong, 2005).<sup>31</sup> Diferentes publicaciones describen que su participación como agentes desencadenantes de sibilancias es de menor importancia que la de los virus

antes descriptos.<sup>32</sup> Nuestros hallazgos coinciden con estas observaciones, ya que CoV se detectó en sólo el 3% de los casos y siempre en coinfección con otro agente viral.

El 25% de los pacientes presentó una coinfección por 2 y 3 virus respiratorios. Si bien la presencia de una coinfección, a diferencia de otras publicaciones<sup>33</sup> no fue un factor de riesgo para prolongar la internación, los días de requerimiento de oxígeno y la presencia de complicaciones, como atelectasia o neumonía, este hallazgo invita a revisar el concepto de que dos pacientes a los cuales se les detecta el mismo agente viral pueden compartir la habitación adoptando precauciones de aislamiento.<sup>34</sup> Las coinfecciones en las que participa alguno de los nuevos agentes descriptos precedentemente, que no son detectados por la técnica de IF habitualmente utilizada, pueden favorecer el desarrollo de infecciones nosocomiales múltiples de origen viral.<sup>35</sup>

Merece destacarse que la fortaleza del presente trabajo radica en su duración de un año a fin de abarcar la circulación estacional que presentan los diferentes virus respiratorios, la efectividad en la incorporación de los pacientes, la detección de los nuevos virus respiratorios descriptos y el hallazgo de coinfecciones virales. Con respecto a sus debilidades, se resalta que la población estudiada está constituida por niños internados, por lo que los resultados obtenidos sólo pueden generalizarse con cautela a los pacientes ambulatorios.

En conclusión, el presente estudio evidencia la elevada prevalencia de los virus respiratorios como agentes desencadenantes de sibilancias en lactantes y niños pequeños hospitalizados, comunica la presencia de los nuevos virus respiratorios por primera vez en nuestro país y describe su patrón de circulación anual.

#### Agradecimientos:

A la Cooperadora de Acción Social (COAS) por su valiosa y permanente ayuda. Al Dr. Francisco Fernández por realizar el análisis estadístico. ■

#### BIBLIOGRAFÍA

- Bisgaard H, Szeffler S. Prevalence of asthma-like symptoms in young children. *Pediatr Pulmonol* 2007; 42:723-728.
- Martínez FD, Wright AL, Taussig LM, et al. Asthma and wheezing in the first six years of life. *N Engl J Med* 1995; 332:133-138.
- Stein RT, Sherril D, Morgan WJ, et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999; 354:541-545.
- Sigurs N, Gustafsson PM, Bjarnason R, et al. Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:137-141.
- Silverman M, Wilson NM. Wheezing disorders in children. En: Silverman M (ed). *Childhood asthma and other wheezing disorders*. London: Chapman and Hall Medical, 1995.
- Gern JE, Busse WW. The role of viral infections in the natural history of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106:201-212.
- Speranza AM, Clary AL, Pereira T, et al. Estudio multicéntrico de infecciones respiratorias agudas en niños hospitalizados menores de dos años. *Arch Argent Pediatr* 2003; 101(6):365-373.
- Ron A, Fouchier GF, Rimmelzwaan TK, Osterhaus A. Newer respiratory virus infections: human metapneumovirus, avian influenza virus, and human coronaviruses. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18:141-146.
- Edwards MR, Keadze T, Johnson M, Johnston SL. New treatment regimes for virus-induced exacerbations of asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 2006; 19:320-334.
- Castro-Rodríguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martínez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1403-1406.
- Elnifro EM, Cooper RJ, Klapper PE, et al. Multiplex polymerase chain reaction for diagnosis of viral and chlamydial keratoconjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(7):1818-22.
- Allander T, Tammi MT, Eriksson M, et al. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:12891-12896.
- Moëns E, Vijgen L, Keyaerts E et al. A novel pancoronavirus RT-PCR assay: frequent detection of human coronavirus NL63 in children hospitalized with respiratory tract infections in Belgium. *BMC Infect Dis* 2005; 5:6.
- Stockton J, Ellis JS, Saville M, et al. Multiplex PCR for typing and subtyping influenza and respiratory syncytial viruses. *J Clin Microbiol* 1998; 36(10):2990-2995.
- Poddar SK, Espina R, Schnurr DP. Evaluation of a single-step multiplex RT-PCR for influenza virus type and subtype detection in respiratory samples. *J Clin Lab Anal* 2002; 16(3):163-166.
- Bouscambert-Duchamp M, Lina B, Trompette A, et al. Detection of human metapneumovirus RNA sequences in nasopharyngeal aspirates of young French children with acute bronchiolitis by real-time reverse transcriptase PCR and phylogenetic analysis. *J Clin Microbiol* 2005; 43(3):1411-1414.
- Bellau-Pujol S, Vabret A, Legrand L, et al. Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses. *J Virol Methods* 2005; 126: 53-63.
- Papadopoulos NG, Hunter J, Sanderson G, et al. Rhinovirus identification by BglII digestion of picornavirus RT-PCR amplicons. *J Virol Methods* 1999; 80:179-185.
- Viegas M, Barrero PR, Maffey AF, Mistchenko AS. Respiratory viruses seasonality in children under five years of age in Buenos Aires, Argentina: a five-year analysis. *J Infect* 2004; 49(3):222-228.
- Murray CS, Simpson A, Custovic A. Allergens, viruses, and asthma exacerbations. *Proc Am Thorac Soc* 2004; 1:99-104.
- Khetsuriani N, Kazerouni N, Erdman DD, et al. Prevalence of viral respiratory tract infections in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119:314-321.
- Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J, et al. Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody for diagnosis of respiratory virus infections in children. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2382-2388.
- Copenhaver C, Gern JE, Li Z, et al. Cytokine response patterns, exposure to viruses, and respiratory infections in the first year of life. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:175-180.

24. Kotaniemi-Syrjanen A, Vainionpaa R, Reijonen TM et al. Rhinovirus-induced wheezing in infancy: the first sign of childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:66-71.
25. Contoli M, Message SD, Laza-Stanca V, et al. Role of deficient type III interferon-lambda production in asthma exacerbation. *Nat Med* 2006; 12:1023-1026.
26. Esper F, Martinello RA, Boucher D, et al. A 1-year experience with human metapneumovirus in children aged < 5 years. *J Infect Dis* 2004; 189:1388-1396.
27. Allander T, Jartti T, Gupta S, et al. Human Bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis*; 44: 904-910.
28. Vicente D, Cilla G, Montes M, et al. Human Bocavirus: a respiratory and enteric virus. *Emerg Inf Dis* 2007; 13(4):636-637.
29. Fuse VA, Barrero PR, Riveiro P, et al. Virus respiratorios: aplicación de nuevos métodos para la detección de rinovirus y enterovirus en las infecciones respiratorias agudas bajas en niños. *Rev Argent Microbiol* 2005; 37:72. (Abstract).
30. Esper F, Shapiro ED, Weibel C, et al. Association between a novel human coronavirus and Kawasaki disease. *JID* 2005; 191: 499-502.
31. Kahn JS, McIntosh K. History and recent advances in coronavirus discovery. *Ped Inf Dis J* 2005; 24(11):S223-S227.
32. Thumerelle C, Deschildre A, Bouquillon C, et al. Role of viruses and atypical bacteria in exacerbations of asthma in hospitalized children: a prospective study in the Nord-Pas de Calais Region (France). *Pediatr Pulmonol* 2003; 35:75-82.
33. Semple MG, Cowell A, Dove W et al. Dual infection of infants by human Metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis. *J Inf Dis* 2005; 191:382-386.
34. Harris J, Huskins W, Langley J, Siegel J. Health care epidemiology perspective on the October 2006 recommendations of the subcommittee on diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics* 2007; 120:890-892.
35. Ong GM, Wyatt DE, O'Neill HJ, et al. A comparison of nested polymerase chain reaction and immunofluorescence for the diagnosis of respiratory infections in children with bronchiolitis, and the implications for a cohorting strategy. *J Hosp Infect* 2001; 49:122-128.

“La verdadera medida de la grandeza de un hombre es cómo trata a quien no puede beneficiarlo en nada”.

ANN LANDERS