



UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS APLICADAS

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA ACADÉMICO DE MEDICINA

Prevalencia de Rinovirus en pacientes pediátricos con diagnóstico clínico de
infección respiratoria aguda en Lima-Perú

TESIS

Para optar por el título profesional de Médico Cirujano

AUTOR(ES)

Castañeda Ribeyro, Ariana Marilia (0000-0002-1005-2766)

ASESOR(ES)

Del Valle Mendoza, Juana (0000-0002-6011-5040)

Aguilar Luis, Miguel Ángel (0000-0001-7023-3190)

Lima, 10 Diciembre 2021

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores por su tiempo y ayuda, al Instituto de investigación nutricional, a la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas y a sus maestros por las enseñanzas durante la carrera; a mi familia por el apoyo incondicional durante estos años.

RESUMEN

Introducción: Las infecciones agudas del tracto respiratorio (IRA) son muy prevalentes, las IRAs bajas constituyen la cuarta causa de muerte a nivel mundial. Los agentes causales más comunes en niños son el Rinovirus (RV) y el Virus sincitial respiratorio (VSR). Existen tres especies de RV (A, B, C), estudios recientes han demostrado que la sintomatología y severidad de la enfermedad varía dependiendo de la especie de RV por la que hayan sido infectados los pacientes. **Objetivo:** Evaluar la prevalencia de Rinovirus en muestras de hisopado nasofaríngeo de niños con diagnóstico clínico de IRA en Lima, Perú durante el periodo 2009-2010. **Materiales y métodos:** Estudio retrospectivo de muestras de hisopado nasofaríngeo en niños, procesadas por la técnica RT-PCR para identificación de RV y sus especies. La población está compuesta por pacientes pediátricos en el Hospital Nacional Cayetano Heredia. Se analizó las variables por medio de la prueba de Chi cuadrado y Fischer. **Resultados:** RVA se detectó en 10.26%, RVB en 16.67%, RVC 73.9%. Grupo etario más prevalente fue de 0-5 meses. Signos y síntomas más comunes fueron tos, fiebre, rinorrea y dificultad respiratoria. Se encontró asociación entre sibilancias y RVA; tos, sibilancias e inyección conjuntival con RVC. Se halló pico de casos por RVC durante marzo, junio y noviembre. **Conclusión:** Se encontró alta prevalencia de infección por RVC en pacientes pediátricos, principalmente en pacientes de 0-5 meses. Distribución mensual muestra aumento de casos en marzo y junio. Se sugiere realizar vigilancia epidemiológica y estudios longitudinales para el estudio de este patógeno.

Palabras clave: IRA; Virus respiratorios; Rinovirus; RT-PCR

ABSTRACT

Introduction: Acute respiratory tract infections (ARTI) are a very prevalent group of diseases, lower ARTI represent the fourth cause of death worldwide. In children, the two most usual agents are Rhinovirus (RV) and Syncytial respiratory virus (SRV). RV is responsible for most is related with lower respiratory tract infections. Scientists have identified three RV species (A, B, C), recent studies have reported that symptomatology and severity vary within RV species.

Objective: Asses the prevalence of Rhinovirus on nasopharyngeal swab samples of children with clinical diagnosis of ARTI in Lima, Peru during 2009-2010. **Materials and method:**

Retrospective study about nasopharyngeal swab on children, which were processed through RT-PCR technique to identify RV and its species. The study population was pediatric patients, with clinical diagnosis of ARTI, at Hospital Nacional Cayetano Heredia. This investigation project will be revised by the ethics committee from Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. **Results:** RVA was detected in 10.26% of cases, RVB 16-67% and RVC in 73.9%.

The most prevalent age group was the 0-5 months old. The most common signs and symptoms were cough, fever, rhinorrhea, and respiratory distress. The study found association between wheezing and RVA infection, cough, wheezing and conjunctival injection and RVC infection.

There was a peak in RVC cases during the March, June, and November. **Conclusion:** We found a high prevalence for RVC infection, mainly in children between 0-5 months old. Monthly distribution showed an increase of RVC cases during March and June; epidemiological surveillance and longitudinal studies should be encouraged.

Keywords: Acute respiratory tract infections; Respiratory viruses; Rhinovirus; RT-PCR

TABLA DE CONTENIDOS

Introducción.....	VII
Materiales y métodos.....	VIII
Resultados	X
Discusión.....	XI
Limitaciones	XIII
Bibliografía.....	XIII
Anexos	XVII

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características demográficas de los pacientes positivos para Rinovirus ... XVIII
Tabla 2: Características clínicas de pacientes positivos para RinovirusXIX
**Tabla S1: Cebadores y sondas utilizadas para la amplificación de Rinovirus y Subtipo
.....XXI**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Flujograma	XVII
Figura 2: Distribución mensual de Rinovirus durante enero 2009-diciembre 2010.....	XXI

1 INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas (IRAs) se dividen en infecciones del tracto respiratorio superior (IRAs altas) e inferior (IRAs bajas) (1). Las IRAs altas incluyen: faringitis, laringitis y sinusitis. Las IRAs bajas son bronquiolitis, bronquitis y neumonía. Los agentes etiológicos responsables de las IRAs son influenza A y B (FluA, FluB), virus sincitial respiratorio (VSR), adenovirus, virus parainfluenza (PIV), metapneumovirus humano (hMPV), rinovirus (RV), *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* y *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pyogenes* (1,2).

A nivel mundial las infecciones del tracto respiratorio inferior son la cuarta causa de muerte en la población general, registrándose 3 millones de defunciones por año; mientras que en el continente americano son la sexta causa de muerte (3,4). En niños menores de 5 años representa la segunda causa de mortalidad en el mundo y en la región de las Américas ocupan el tercer lugar de las causas de muerte en este mismo grupo etario (4). En el Perú las infecciones respiratorias agudas bajas son una de las principales causas de mortalidad, representando un 67.6% de las defunciones (5). Según el MINSA, la mortalidad en niños entre 0 a 11 años es de 29.8% y en adolescentes es de 4.4% (5).

El RV es el principal agente causal de los resfríos comunes (6,7) y está relacionado con infecciones del tracto respiratorio inferior, en niños, como bronquiolitis (20-40% de los casos severos), neumonía adquirida en la comunidad y exacerbaciones de asma (6,7,8,9). Por otro lado, se suele considerar al virus sincitial respiratorio (VSR) como el primer agente causal de la mayoría infecciones del tracto respiratorio en la población pediátrica y al RV en segundo lugar. Sin embargo, recientes estudios muestran un mayor número de pacientes con infección por RV en las unidades de cuidados intensivos pediátricas (UCIP) (6,10).

Actualmente se conocen 170 genotipos de RV aproximadamente, todos ellos han sido agrupados en tres especies: rinovirus A, B y C (6). Asimismo, cada especie de RV posee una fisiopatología distinta y una prevalencia que varía según la enfermedad que origina (11,12,13). Siendo el RVA más común en episodios de bronquiolitis y neumonía, RVC en bronquiolitis y pacientes asmáticos y RVB es menos prevalente y se relaciona con episodios menos severos o asintomáticos (9,12,13,14).

Las infecciones por RV pueden ser tanto sintomáticas como asintomáticas, estas últimas ocurren generalmente en niños mayores y adultos (8). Los principales síntomas son tos, fiebre, malestar general y sibilancias (8,9). Se ha descrito variaciones en la sintomatología según la especie de RV, la especie B suele asociarse con una presentación asintomática pero cuando presenta síntomas estos incluyen malestar general y fiebre, mientras que los dos restantes incluyen fiebre y tos (9, 15). En cuanto a la prevalencia del RV, suele ser más común las infecciones por la especie A y C (16, 17).

El objetivo de este estudio es evaluar la prevalencia de Rinovirus en muestras de hisopado nasofaríngeo de niños con diagnóstico clínico de IRA.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio es un estudio descriptivo retrospectivo

2.1 Pacientes y muestras

Se realizó un análisis secundario en muestras de hisopado nasofaríngeo de un estudio transversal en niños menores de 17 años con diagnóstico clínico de Infección Respiratoria Aguda (IRA) procedentes de la emergencia del Hospital Nacional Cayetano Heredia durante los años 2009-2010.

El estudio original reclutó a 767 pacientes con diagnóstico de IRA en la emergencia del Hospital Cayetano Heredia, de las cuales 208 muestras fueron descartadas por no cumplir con los criterios de inclusión para este estudio. El estudio original utilizó las características epidemiológicas y clínicas para registrarlas en una base de datos, la cual incluye: edad, síntomas (fiebre, definida como temperatura superior a 38°C, rinorrea, tos, dificultad respiratoria, dolor de garganta, sibilancias, malestar, congestión faríngea, expectoración, vómitos, diarrea, etc.), duración de los síntomas y tiempo. entre la toma de muestras y la llegada al laboratorio.

Los criterios de inclusión considerados en el estudio principal fueron: paciente pediátrico con diagnóstico clínico de IRA y contar con el consentimiento informado por padres o tutor del menor. Mientras que los criterios de exclusión incluyeron provenir de otros países, padecer de enfermedades inmunológicas y muestra mal almacenada.

2.2 Declaración de Ética

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas en Lima, Perú (Documento N°: 298-08-20 / Agosto-2020). Las muestras fueron colectadas previo consentimiento informado por el padre/madre/tutor del niño. En el caso de pacientes mayores de 8 años estos procedieron a firmar el asentimiento informado. De acuerdo con las directrices éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud humana preparadas por el CIOMS y la OMS.

2.3 Muestras

Se obtuvieron dos muestras nasofaríngeas por paciente insertando un hisopo en ambas fosas nasales paralelas al paladar (Mini-Tip Culture Direct, Becton-Dickinson Microbiology System, MD) y un segundo hisopo de las áreas faríngea y amigdalina posterior (Viral Culturette, Becton- Dickinson Microbiology Systems). Se colocaron hisopos nasales y faríngeos en el mismo tubo que contenía medio de transporte viral (un medio esencial mínimo tamponado con NaHCO₃ y suplementado con suero bovino fetal al 2%, penicilina y estreptomicina 100U / ml, anfotericina B 20 mg / ml, neomicina 40 mg / ml). Las muestras del estudio original fueron almacenadas a -20 ° C en el laboratorio del Centro de Investigación e Innovación en Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (Lima, Perú).

2.4 Extracción de ácidos nucleicos (ARN)

La extracción de ARN se realizó a partir de 200 µL de muestras de hisopado nasofaríngeo, el ARN se extrajo con el kit de aislamiento de ARN High Pure (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

2.5 Síntesis de ADNc

Se utilizó el kit de síntesis de ADNc Transcriptor High Fidelity (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para la síntesis de ADNc se utilizó 2.5µL de RNA , 1µL de primer Random y 3µL de agua, las muestras son incubadas durante 10 minutos a 65°C. Posteriormente se adiciona 2µL de Buffer, 0.25µL de inhibidor de RNAsas, 1µL de dNTPs y 0.25µL de Transcriptasa. Las muestras son incubadas a 55°C durante 30 minutos, seguido de un ciclo de inactivación a 85 ° C durante 5 min.

2.6 Amplificación por PCR convencional de Rinovirus

La detección de Rinovirus se realizó utilizando los cebadores descritos previamente por Jin, Y et al., 2009 (18) (Tabla S1). Las amplificaciones se iniciaron con una incubación a 95 ° C durante 10 min, seguido de 45 ciclos de 95 ° C durante 30 segundos, 55 ° C durante 45 segundos y 72 ° C durante 60 segundos; con una extensión final a 72 ° C durante 10 min. Los productos amplificados se visualizaron en un gel de agarosa al 1,5% que contenía 3 µg / ml de bromuro de etidio en tampón Tris-borato 1x y se fotografiaron bajo iluminación ultravioleta (Transiluminador UV KODAC LOGIC 1500, New Haven, EE. UU.). Los productos amplificados se recuperaron del gel, se purificaron (SpinPrep™ Gel DNA Kit, San Diego, EE. UU.) Y se enviaron al servicio de secuenciación comercial (Macrogen, Seúl, Korea).

2.7 Amplificación por PCR a tiempo real para la detección de los subtipos de Rinovirus

El ensayo de RT-PCR en tiempo real se realizó utilizando una sonda TaqMan con fluorescencia FAM-TAMRA a una concentración de 50 µM y cebadores en un volumen final de 20 µl a una concentración de 100 µM. Se mezclaron cinco microlitros del ADNc con 15 µl de la solución maestra. Las condiciones de PCR para RVC fueron 95 ° C durante 10 min y 45 ciclos de 15 segundos a 95 ° C, 30 segundos a 52 ° C y 30 segundos a 72 ° C. Todos los procedimientos se realizaron en un instrumento Light Cycler 2.0 y los datos se analizaron con el software Light Cycler versión 4.1 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Los cebadores y la sonda utilizados para RVC fueron descritos por Sikazwe et al., 2016 (19) (Tabla S1). Para RVA y RVB se utilizaron cebadores descritos previamente por Jin et al (18) y Lu et al (20) (Tabla S1). Se ejecutó una reacción de control interno para cada una de las muestras para confirmar la integridad de los reactivos de extracción y la recuperación exitosa de ARN.

2.8 Análisis de los datos

Las variables cualitativas se describieron como frecuencias y porcentajes para cada grupo. La distribución de frecuencias entre grupos se analizó mediante la prueba de Chi² y prueba exacta de Fisher utilizando el software STATA16.0

3 RESULTADOS

Como se muestra en la Figura 1, se recolectaron 767 muestras por hisopado nasofaríngeo de pacientes pediátricos con un diagnóstico clínico de infección respiratoria aguda (IRA). Para el análisis final, 559 muestras cumplieron con los criterios de inclusión y fueron analizadas para la detección del género rinovirus humano (RV) y sus tres subtipos (A, B, C) por RT-PCR. Se detectó el género rinovirus en 236/559 muestras (42.22%). Entre estos el subtipo rinovirus A

fue responsable de 10.26% (24/234) casos, rinovirus b del 16.67% (39/234) y rinovirus c de 73.93% (173/234) casos.

Se incluyeron un total de 559 pacientes con IRA para el análisis de la infección por rinovirus mediante RT-PCR de hisopados nasofaríngeos. La tabla 1 muestra que el 56.89% (318/559) eran hombres y el 40.79% (228/559) eran mujeres. En cuanto a la edad, el grupo con mayor número de casos fue el grupo de 0-5 meses con 45.97% seguido del grupo de 1-5 años con 25.22%. El grupo con menos casos detectados fue el de 11-17 años con un 3.76% de casos. El 86.44% (204/236) de los casos positivos para el género RV fue hospitalizado; El 87.5% (21/24) del total de casos positivos para subtipo RVA fue hospitalizado, 82.05% (31/39) de RVB y 87.28% (151/173) de los positivos para subtipo RVC. No se encontró asociación entre las variables mencionadas e infección por los diferentes subtipos de RV.

Los signos y síntomas más comunes encontrados en el presente estudios fueron tos con 69.59% (389/559), seguido de fiebre 67.80% (379/559), rinorrea 66.90% (374/559) y dificultad respiratoria 56.71 (317/559). Se encontró asociación entre infección por RVA y sibilancias ($p=0.022$), entre RVC y tos ($p=0.012$), sibilancias ($p=0.002$) y congestión conjuntival ($p=0.031$) (**tabla 2**).

En la figura 2 se muestra la distribución mensual de los casos de las especies de RV detectados durante al año. Se observó un pico de casos de RVC en marzo (32 casos de RVC) y junio (30 casos de RVC). Se aprecia una distribución constante en los casos de RVA y RVB, siendo estos dos los que menos casos tienen. Los meses con menor número de casos fueron septiembre y octubre.

En la tabla 3 se describen las coinfecciones de RV y otros patógenos en las muestras analizadas. RVS-A fue el virus más común en coinfección en pacientes positivos para RV y negativos. De igual manera, pacientes con RVC contaron con mayor número de detección de RSV-A (14.45%). Otros virus como Influenza y Parainfluenza fueron los menos detectados en todos los grupos. Tabla 4 muestra los síntomas y signos en pacientes con mono infección RV. Predominaron los síntomas de tos, fiebre y rinorrea.

4 DISCUSIÓN

En los últimos años se ha realizado importantes avances en la vigilancia del RV, sobre todo en la genotipificación de este y su relación con las IRAs con énfasis en bronquiolitis y asma. Se ha visto que este patógeno está implicado en la aparición, exacerbación de asma y en las complicaciones que esta enfermedad pueda presentar **(6, 14, 21)**. Contar con el diagnóstico oportuno conlleva a un mejor seguimiento del paciente y un tratamiento de soporte dirigido **(21)**. Por ello, el objetivo de este estudio es describir la prevalencia de RV en pacientes pediátricos con IRAs en un hospital de Lima, Perú.

En este estudio el 42.22% (234/559) fueron positivos para el género RV, de los cuales 10.16% (24/236) correspondieron al subtipo A, 16.53% (39/236) al subtipo B y 73.31% (173/236) al subtipo C. Siendo la población más afectada el grupo etario de 0-5 meses de edad con 48.73% (115/236) de casos positivos para el género RV, 58.33 % (14/24) para RVA, 58.97% (23/39) para RVB y 45.09% (78/173) para RVC. El estudio de Howard, et al en el 2016, realizado en Cajamarca muestra una prevalencia de 50.2% de RVA, 40.1% RVB y 40.1% de casos de RVC en niños menores de 3 años **(15)**. Las infecciones por RV suelen ser asintomáticas en niños mayores, se cree que se debe a la inmunidad adquirida y otros factores dependientes del hospedero como al número de receptores ICAM-1, las cuales provocan una respuesta inflamatoria frente a infección por RV **(8, 17)**. Ello podría explicar el menor número de casos reportados en pacientes entre 11-17 años en nuestro estudio. Sin embargo, un estudio previo encontró asociación entre edad y especie de RV ($p=0,005$), en donde los niños mayores tenían mayor posibilidad de sufrir infecciones por RVC **(23)**. No existe una determinada relación entre edad e infección por un subtipo específico de RV, ya que hay pocos estudios que abordaron este tema **(23)**. Por otro lado, en este estudio se encontró que el subtipo con menor número de casos reportados fue el RVA.

Diversos estudios han demostrado que la sintomatología clásica en infección por RV consiste en rinorrea, congestión nasal, dolor de garganta, cefalea, malestar general y sibilancias **(8,11)**. La sintomatología varía según el subtipo de RV que infecta. Infecciones por RVA se ha asociado con enfermedad más leve; sin embargo, aún no está claro con qué tipo de sintomatología relacionarlo **(16,17)**. Se encontró asociación entre infección por RVA y sibilancias ($p=0.022$). RVB suelen ser infecciones asintomáticas, pero cuando presentan síntomas estos suelen ser malestar general, fiebre y pérdida de apetito **(9,15)**, se encontró que 69.23% (27/39) presentó fiebre y el 30.77% (12/39) presentó tos; no obstante, no se encontró

asociación entre RVB y las variables del estudio. Mientras que RVC se relaciona con sibilancias y presenta sintomatología más grave como presencia de dificultad respiratoria, mayor necesidad de oxígeno suplementario y cambios radiológicos **(14,15,24)**. Ello concuerda con los hallazgos de este estudio pues las características clínicas más comunes fueron fiebre, rinorrea, tos y dificultad respiratoria. Además, Se encontró asociación significativa entre infección por RVC y tos ($p= 0,012$), sibilancias ($p=0,002$), congestión conjuntival ($p=0.031$). Sin embargo, contrario a la literatura, en este estudio no se encontró asociación entre dificultad respiratoria y RVC ($p=0,101$). Cabe recalcar que, esta sintomatología se asocia/puede ser explicada por los cambios generados por RV, especialmente los tipos A y C. El RV desencadena una respuesta inmune relacionada con la producción de diversos mediadores proinflamatorios (interleucinas, interferón, factor de necrosis tumoral alfa, etc.) y quimioatrayentes de musculo liso **(11)**. Afectando así, la homeostasis de las vías aéreas al promover su remodelación, hipersecreción de moco y expansión de células linfoides **(11)**.

En cuanto a la distribución mensual de RV y sus subtipos, se observó una distribución variable a lo largo de todo el año, con picos que sobresalen durante los meses de marzo y junio principalmente, los cuales corresponden al otoño en el hemisferio sur. Estos datos son concordantes con los hallazgos de otros estudios en donde todos reportan un aumento de casos durante la misma estación del año **(3,9,13,16)**. Sin embargo, el estudio en Brasil también encontró un pico de casos durante el invierno, mientras que los estudios en China, Mozambique y Holanda durante el verano **(3,9,13,16)**. Estas discrepancias se pueden deber a factores sociales y/o climáticos como temperatura o humedad.

Por otro lado, se halló coinfecciones con otros virus, principalmente con VSR-A e influenza. Ello podría tener un rol en la sintomatología clínica. En general, la mayoría de casos positivos para RV se trataron de mono infecciones: RVA 83.33% (20/24), RVB 87.18% (34/39) y RVC 78.03 (135/173). Se encontró que la sintomatología predominante fue tos, fiebre, rinorrea, distrés respiratorio en todas las mono y coinfecciones.

En conclusión, el grupo de edad con mayor prevalencia de RVC fue el de 0-5 meses. Además, se encontró asociación de infección por RVC con tos, sibilancias y congestión conjuntival. La distribución mensual muestra un aumento de casos durante los meses de marzo y junio; sin embargo, el RV es un agente etiológico que está circulando durante todo el año. Hasta el día de hoy no está determinado la relación entre grupo de edad e infección por una especie

específica de RV, por este motivo es importante hacer énfasis en la vigilancia epidemiológica de este virus como agente causal de las IRAs. Asimismo, en este estudio predominó la monoinfección por RV y la co-infección más común fue RV con VSR-A.

5 LIMITACIONES

Al ser un estudio retrospectivo de una base de datos previa, no se contó con la información clínica referente a otras comorbilidades como asma. En este estudio no es posible determinar la estacionalidad, solo se pudo determinar la distribución mensual.

6 BIBLIOGRAFÍA

1. Thomas M, Koutsothanasis G, Bomar P. Upper respiratory tract infection. StatPearls [Internet]. 2020 [Citado 5 julio 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532961/>
2. Liu P, Xu M, He L, Su L, Wang A, Fu P. Epidemiology of respiratory pathogens in children with lower respiratory tract infections in Shanghai, China, from 2013 to 2015. Jpn J. Infect. Dis. [Internet]. 2018 [Citado 5 julio 2020]; 71: 39-44. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/yoken/71/1/71_JJID.2017.323/_pdf/-char/en
3. World Health Organization [Internet]. The top 10 causes of death. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
4. World Health Organization [Internet]. Top 10 causes of death. Disponible en: https://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/causes_death/top_10/en/
5. Ministerio de salud del Perú, Centro nacional de epidemiología, prevención y control de enfermedades [Internet]. Análisis de situación de salud del Perú. Depósito legal de la biblioteca nacional del Perú (Perú); 2016.
6. Hasegawa K, Mansbach J, Bochkov Y, Gern J, Piedra P, Bauer C, et al. Association of Rhinovirus C bronchiolitis and immunoglobulin E sensitization during infancy with development of recurrent wheeze. JAMA Pediatr [Internet]. 2019 [Citado 28 Junio 2020]; 173(6): 509-610. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jamapediatrics/fullarticle/2729181>
7. Piedra P, Stark A. Bronchiolitis in infants and children: Clinical features and diagnosis. UpToDate [Internet]. 2020 [Citado 28 Junio 2020]. Disponible en:

https://www.uptodate.com/contents/bronchiolitis-in-infants-and-children-clinical-features-and-diagnosis?search=rhinovirus&source=search_result&selectedTitle=2~73&usage_type=default&display_rank=2

8. Pappas D. Epidemiology, clinical manifestations, and pathogenesis of rhinovirus infections. UpToDate [Internet]. 2019 [Citado 28 junio 2020]. Disponible en: https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-clinical-manifestations-and-pathogenesis-of-rhinovirus-infections?search=rhinovirus&source=search_result&selectedTitle=1~73&usage_type=default&display_rank=1#H12
9. Wildenbeest J, Van der Schee M, Hashimoto S, Benschop K, Minaar R, Sprikkelman A, et al. Prevalence of rhinoviruses in young children of an unselected birth cohort from the Netherlands. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2016 [Citado 28 junio 2020]; 22(8): 736.e9-736.e15. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X16301653>
10. Cox D, Khoo S, Zhang G, Lindsay K, Keil A, Knight G, et al. Rhinovirus is the most common virus and rhinovirus-C is the most common species in paediatric intensive care respiratory admissions. *Eur Respir J* [Internet]. 2018 [Citado 28 junio 2020]; 52(2): 1-3. Disponible en: <https://erj.ersjournals.com/content/52/2/1800207.long>
11. Vandini S, Biagi C, Fischer M, Lanari M. Impact of Rhinovirus in children. *Viruses* [Internet]. 2019 [Citado 28 junio 2020]; 11(6): 521 <https://doi.org/10.3390/v11060521> Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4915/11/6/521/htm>
12. Su Y, Lin Y, Yang C, Tsai S, Wang J, Huang Y, et al. High correlation between human rhinovirus type C and children with asthma exacerbations in Taiwan. *Journal of microbiology, immunology and infection* [Internet]. 2018 [Citado 28 junio 2020]; DOI 10.1016. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S168411821830536X?via%3DiHub>
13. Fawkner-Corbett D, Kim S, Duarte C, Bezerra P, Bochkov Y, Gern J. Rhinovirus-C detection in children presenting with acute respiratory infection to hospital in Brazil. *Journal of Medical Virology* [Internet]. 2015 [Citado 28 junio 2020]; 88(1):

<https://doi.org/10.1002/jmv.24300>

Disponibile

en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmv.24300>

14. Watter K, Palamenberg A. CDHR3 extracellular domains EC1-3 mediate rhinovirus C interaction with cells and as recombinant derivatives, are inhibitory to virus infection. PLOS Pathog [Internet]. 2018 [citado 28 junio 2020]; 14(12): e1007477. Disponible en: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1007477>
15. Howard L, Johnson M, Gil A, Griffin M, Edwards K, Lanata C, et al. Molecular epidemiology of Rhinovirus detections in young children. Open Forum infectious diseases [Internet]. 2016 [Citado 28 junio 2020]; 3(1): <https://doi.org/10.1093/ofid/ofw001> Disponible en: <https://academic.oup.com/ofid/article/3/1/ofw001/2460731>
16. Annamalay A, Lanaspá M, Khoo S, Madrid L, Acácio S, Zhang G, et al. Rhinovirus species and clinical features in children hospitalized with pneumonia from Mozambique. Tropical medicine and international health [Internet]. 2016 [Citado 28 junio 2020]; 21(9): 1171-1180. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/tmi.12743>
17. Bruning A, Thomas X, Van der Linden L, Wildenbeest J, Minaar R, Jansen R, et al. Clinical, virological and epidemiological characteristics of rhinovirus infections in early childhood: A comparison between non hospitalized and hospitalized children. Journal of clinical virology [Internet]. 2015 [Citado 29 Junio 2020]; 73: 120-126. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386653215007295?via%3Dihub>
18. Jin Y, Yuan X, Xie Z, Gao H, Song J, Zhang R, et al. Prevalence and clinical characterization of a newly identified human rhinovirus C species in children with acute respiratory tract infections. J Clin Microbiol [Internet]. 2009 [Citado 14 Julio 2020]; 47(9): 2895-2900. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2738104/>
19. Sikazwe C, Chidlow G, Imrie A, Smith D. Reliable quantification of rinovirus species C usinr real-time PCR. Journal of virological methods [Internet]. 2016 [Citado 14 Julio 2020]; 235: 65-72. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166093416300556>
20. Lu X, Holloway B, Dare RK, Kuypers J, Yagi S, Williams JV, Hall CB, Erdman DD. Real-time reverse transcription-PCR assay for comprehensive detection of human

rhinoviruses. *J Clin Microbiol.* 2008 Feb;46(2):533-9. doi: 10.1128/JCM.01739-07. Epub 2007 [Citado 5 Diciembre 2020] PMID: 18057136; PMCID: PMC2238069. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01739-07?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed

21. Yan Y, Huang L, Wang M, Wang Y, Ji W, Zhu C, et al. Clinical and epidemiological profiles including meteorological factors of low respiratory tract infection due to human rhinovirus in hospitalized children. *Ital J Pediatr* [Internet]. 2017 [Citado 5 julio 2020]; 43(23): <https://doi.org/10.1186/s13052-017-0346-z> Disponible en: <https://ijponline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13052-017-0346-z>
22. Hayes A, Nguyen D, Andersson M, Antón A, Bailly JL, Beard S, et al. A European multicenter evaluation of detection and typing methods for human enteroviruses and parechoviruses using RNA transcripts. *J Med Virol* [Internet]. 2020 [Citado 27 octubre 2020]; 92(8):1065-1074. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmv.25659>
23. Linder J, Kraft D, Mohamed Y, Lu Z, Heil L, Tollefson S, et al. Human rhinovirus C: Age, season, and lower respiratory illness over the past 3 decades. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013 [Citado 29 junio 2020]; 131(1): 69-77. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3748586/>
24. Schuster J, Williams J. Emerging respiratory viruses in children. *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2018 [Citado 27 octubre 2020]; 32(1): 65-74. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7134626/>

7 ANEXOS

Figura 1: Flujograma

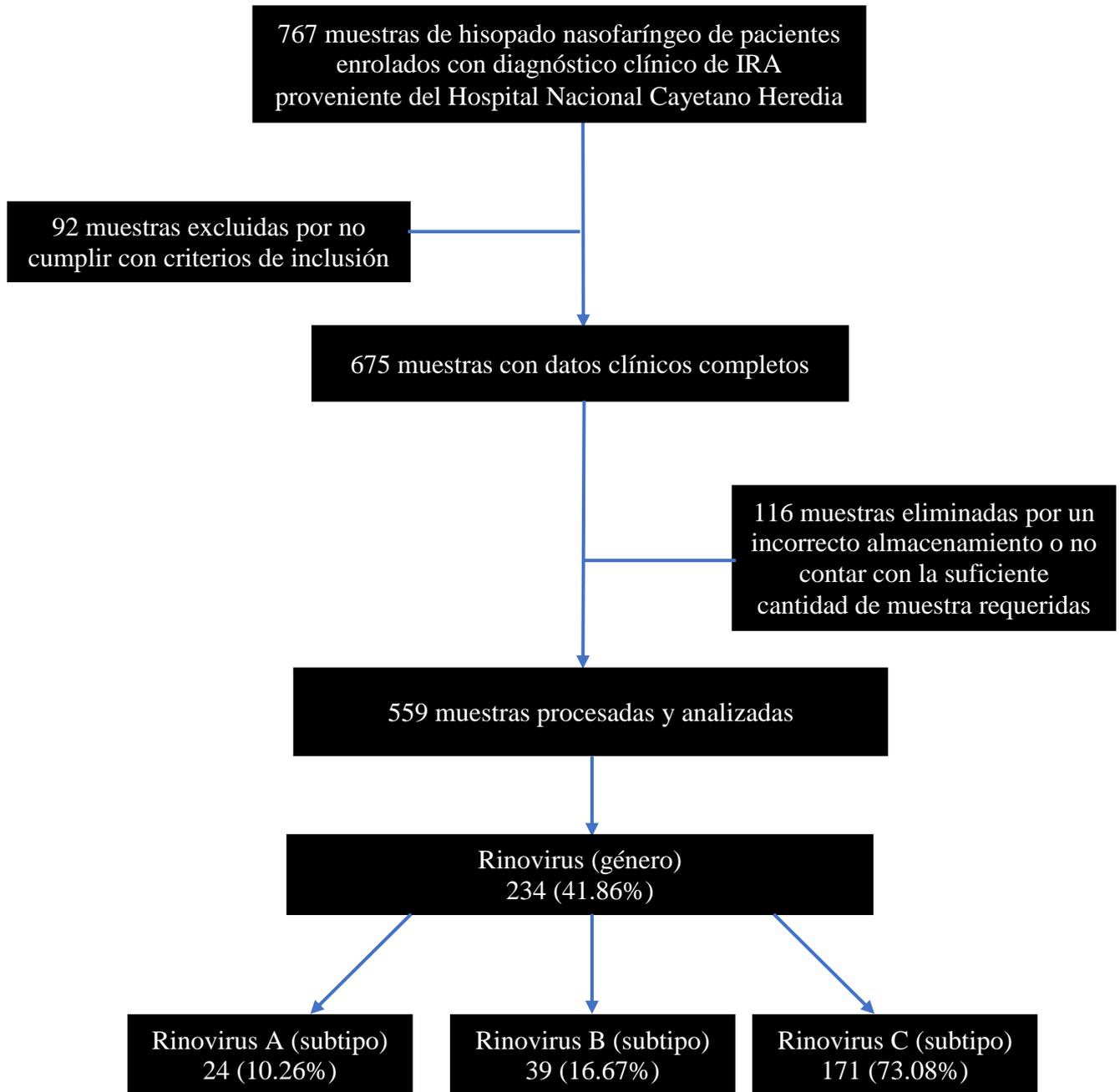


Tabla 1. Características demográficas de los pacientes con IRA positivos para Rinovirus humano

	Total de casos N = 559 (%)	Rinovirus N=236 (%)	Rinovirus A N= 24 (%)	Valor p	Rinovirus B N= 39 (%)	Valor p	Rinovirus C N= 173 (%)	Valor p
Edad								
0 – 5 meses	257 (45.97)	115(48.73)	14 (58.33)		23 (58.97)		78(45.09)	
6 – 11 meses	102 (18.25)	49(20.76)	6 (25.00)		6 (15.38)		37(21.39)	
1 – 5 años	141 (25.22)	54(22.88)	1 (4.17)	0.07(+)	9 (23.08)	0.417(+)	44(25.43)	0.505(*)
6 – 10 años	32 (5.72)	10(4.24)	2 (8.33)		0 (0.00)		8(4.62)	
11 – 17 años	21 (3.76)	6(2.54)	1 (4.17)		1 (2.56)		4(2.31)	
NI	6 (1.07)	2(0.85)	0 (0.00)		0 (0.00)		2(1.16)	
Género								
Femenino	228 (40.79)	95(40.25)	10 (41.67)		12 (30.77)		73(42.2)	
Masculino	318 (56.89)	135(57.20)	13 (54.17)	0.864(*)	27 (69.23)	0.149(*)	95(54.91)	0.593(*)
NI	13 (2.33)	6(2.54)	1 (4.17)		0 (0.00)		5(2.89)	
Hospitalización								
Si	467 (83.54)	204(86.44)	21(87.5)	0.781(+)	32(82.05)	0.795(*)	151(87.28)	0.110(*)
No	92 (16.46)	32(13.56)	3(12.50)		7(17.95)		22(12.72)	

(*) Prueba χ^2

(+) Prueba exacta de Fisher

NI: no indica

Tabla 2. Características clínicas de los pacientes con IRA positivo para Rinovirus humano

Signos y síntomas	Total de casos N = 559 (%)	Rinovirus N=236 (%)	Rinovirus A N= 24 (%)	Valor p	Rinovirus B N= 39 (%)	Valor p	Rinovirus C N= 173 (%)	Valor p
Tos	389 (69.59)	172(72.88)	16 (66.67)	0.755(*)	23 (58.97)	0.137(*)	133(76.88)	0.012(*)
Fiebre	379 (67.80)	162(68.64)	17 (70.83)	0.745(*)	27 (69.23)	0.843(*)	118(68.21)	0.890(*)
Rinorrea	374 (66.90)	161(68.22)	17 (70.83)	0.676(*)	23 (58.97)	0.275(*)	121(69.94)	0.307(*)
Dificultad respiratoria	317 (56.71)	145(61.44)	14 (58.33)	0.870(*)	24 (61.54)	0.528(*)	107(61.85)	0.101(*)
Sibilancias	203 (36.31)	104(44.07)	14 (58.33)	0.022(*)	11 (28.21)	0.275(*)	79(45.66)	0.002(*)
Malestar general	142 (25.40)	70(29.66)	8 (33.33)	0.362(*)	12 (30.77)	0.425(*)	50(28.90)	0.203(*)
Expectoración	138 (24.69)	61(25.85)	7 (29.17)	0.603(*)	7 (17.95)	0.312(*)	47(27.17)	0.362(*)
Congestión faríngea	135 (24.15)	54(22.88)	6 (25.00)	0.921(*)	6 (15.38)	0.185(*)	42(24.28)	0.962(*)
Dolor de garganta	73 (13.06)	35(14.83)	5 (20.83)	0.225(+)	6 (15.38)	0.655(*)	24(13.87)	0.702(*)
Vómitos	70 (12.52)	36(15.25)	5 (20.83)	0.207(+)	9 (23.08)	0.047(+)	22(12.72)	0.926(*)
Diarrea	57 (10.20)	27(11.44)	3 (12.50)	0.726(+)	2 (5.13)	0.411(+)	22(12.72)	0.187(*)
Astenia	47 (8.41)	14(5.93)	2 (8.33)	1(+)	1 (2.56)	0.237(+)	11(6.36)	0.242(*)
Cefalea	30 (5.37)	9(3.81)	2 (8.33)	0.374(+)	2 (5.13)	1(+)	5(2.89)	0.082(*)
Dolor abdominal	26 (4.65)	12(5.08)	1 (4.17)	1(+)	2 (5.13)	0.701(+)	9(5.20)	0.679(*)
Congestión conjuntival	26 (4.65)	15(6.36)	0 (0.00)		2 (5.13)	0.701(+)	13(7.51)	0.031(*)

Colapso circulatorio	11 (1.97)	5(2.12)	0 (0.00)		2 (5.13)	0.175(+)	3(1.73)	1(+)
Adenopatías	10 (1.79)	6(3.81)	2 (8.33)	0.064(+)	1 (2.56)	0.518(+)	3(1.73)	1(+)
Otalgia	9 (1.61)	2(0.85)	0 (0.00)		0 (0.00)		2(1.16)	0.728(+)
Mialgias	8 (1.43)	2(0.85)	1 (4.17)	0.298(+)	0 (0.00)		1(0.58)	0.445(+)
Pérdida de la conciencia	7 (1.25)	4(1.69)	0 (0.00)		1 (2.56)	0.399(+)	3(1.73)	0.682(+)
Falla multiorgánica	6 (1.07)	4(1.69)	0 (0.00)		2 (5.13)	0.060(+)	2(1.16)	1(+)
Erupción cutánea	6 (1.07)	1(0.42)	0 (0.00)		0 (0.00)		1(0.58)	0.672(+)
Fotofobia	4 (0.72)	0 (0.0)	0 (0.00)		0 (0.00)		0 (0.00)	

(*)Prueba chi²

(+) Prueba exacta de Fisher

Figura 2. Distribución mensual del Rinovirus humano durante el periodo enero 2009 - diciembre 2010

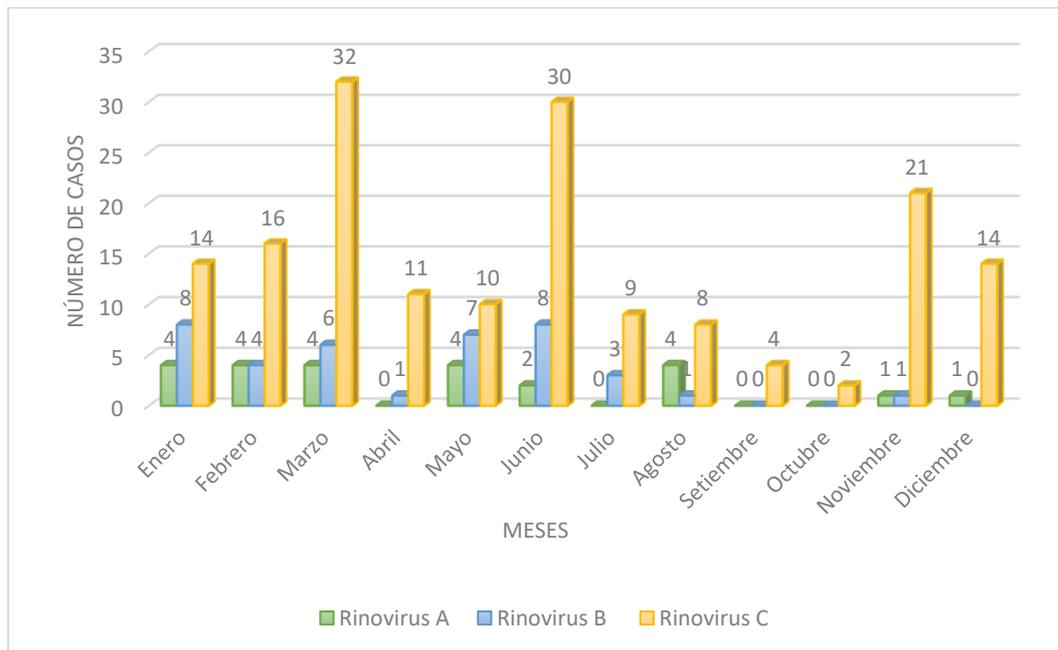


Tabla 3: Co infecciones entre rinovirus y otros virus respiratorios

		Rinovirus A N=24 (%)	Rinovirus B N=39 (%)	Rinovirus C N=173 (%)	Rinovirus Negativo N=323 (%)
Influenza	Influenza A	1 (4.17)	2 (5.13)	3 (1.73)	10 (3.09)
	Influenza B	0 (0)	0 (0)	1 (0.58)	0 (0)
	Influenza C	0 (0)	0 (0)	1 (0.58)	0 (0)
RSV	RSV-A	1 (4.17)	3 (7.69)	25 (14.45)	40 (12.38)
	RSV-B	0 (0)	0 (0)	2 (1.16)	1 (0.31)
Parainfluenza	Parainfluenza 1	1 (4.17)	0 (0)	6 (3.47)	11 (3.41)
	Parainfluenza 2	1 (4.17)	0 (0)	1 (0.58)	8 (2.48)
	Parainfluenza 3	1 (4.17)	0 (0)	0 (0)	6 (1.86)
	Parainfluenza 4	0 (0)	0 (0)	2 (1.16)	6 (1.86)
Monoinfección		20 (83.33)	34 (87.18)	135 (78.03)	-

Tabla 4: Características clínicas de pacientes con infección y co-infección

Síntomas	Rinovirus A				Rinovirus B				Rinovirus C			
	Monoinfección N=20 (%)	Flu N=1 (%)	RSV N=1 (%)	PIV N=3 (%)	Monoinfección N=34 (%)	Flu N=2 (%)	RSV N=3 (%)	PIV N=0 (%)	Monoinfección N=135 (%)	Flu N=5 (%)	RSV N=27 (%)	PIV N=9 (%)
Tos	12 (60.0)	1 (10.0)	1 (10.0)	3 (10.0)	18 (52.94)	2 (10.0)	3 (10.0)	0 (0.0)	98 (72.59)	4 (80.0)	25 (92.6)	8 (88.89)
Fiebre	14 (70.0)	1 (10.0)	1 (10.0)	2 (66.67)	22 (64.71)	2 (10.0)	3 (10.0)	0 (0.0)	95 (69.85)	4 (80.0)	17 (62.9)	4 (44.44)
Rinorrea	14 (70.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	3 (10.0)	18 (52.94)	2 (10.0)	3 (10.0)	0 (0.0)	93 (68.14)	2 (40.0)	22 (81.5)	6 (66.67)
Distres respiratorio	10 (50.0)	1 (10.0)	1 (10.0)	3 (10.0)	20 (58.82)	1 (5.0)	3 (10.0)	0 (0.0)	82 (60.74)	2 (40.0)	16 (59.3)	8 (88.89)
Sibilancias	11 (55.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	3 (10.0)	9 (26.47)	0 (0.0)	2 (66.67)	0 (0.0)	60 (44.44)	1 (20.0)	15 (55.6)	4 (44.44)
Malestar general	5 (25.0)	1 (10.0)	1 (10.0)	2 (66.67)	11 (32.35)	1 (5.0)	1 (33.33)	0 (0.0)	41 (30.37)	1 (20.0)	6 (22.2)	3 (33.33)
Expectoración	4 (20.0)	1 (10.0)	1 (10.0)	2 (66.67)	5 (14.71)	1 (5.0)	1 (33.33)	0 (0.0)	38 (28.15)	0 (0.0)	8 (29.6)	1 (11.11)

Faringitis	4 (20.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	2 (66.67)	3 (8.82)	1 (50.0)	1 (33.33)	0 (0.0)	32 (23.70)	0 (0.0)	9 (33.33)	1 (11.11)
Dolor de garganta	3 (15.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	2 (66.67)	4 (11.76)	2 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	17 (12.59)	0 (0.0)	6 (22.22)	1 (11.11)
Vómitos	4 (20.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	1 (33.33)	7 (20.59)	1 (50.0)	1 (33.33)	0 (0.0)	14 (10.37)	0 (0.0)	6 (22.22)	2 (22.22)
Diarrea	2 (10.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	1 (33.33)	1 (2.94)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (11.11)	0 (0.0)	5 (18.5)	2 (22.22)
Astenia	1 (5.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (33.33)	1 (2.94)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (3.70)	1 (20.0)	6 (22.22)	0 (0.0)
Cefalea	2 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.94)	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (3.70)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Dolor abdominal	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.94)	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (4.44)	0 (0.0)	1 (3.7)	2 (22.22)
Inyección conjuntival	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.94)	0 (0.0)	1 (33.33)	0 (0.0)	9 (6.67)	0 (0.0)	3 (11.11)	1 (11.11)
Shock	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.88)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.48)	0 (0.0)	1 (3.7)	0 (0.0)
Adenopatía	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	1 (2.94)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.48)	0 (0.0)	1 (3.7)	0 (0.0)

Otalgia	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.48)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Mialgias	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (66.67)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.74)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Alteración de la conciencia	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1(2.94)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (2.22)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Falla multiorgánica	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.88)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.48)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Rash	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.74)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Fotofobia	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

Tabla S1. Cebadores y sondas utilizadas para la amplificación de género Rinovirus y subtipo Rinovirus C

Virus	Primer	Secuencia (5'----3')	Tm
Rhinovirus Jin Y et al. [18]	HRV-F	5'-GGGACCAACTACTTTGGGTGTCCGTGT-3'	62
	HRV-R	5'- GCATCIGGYARYTTCCACCACCANCC-3'	60
Rhinovirus A (RV-A) Lu et al. [20]	HRVA-F	5'- GTACTCTGTTATTCCGGTAACTTTGYAYGCCA- 3'	70
	HRVA-R	5'- CCAACATTCTGTCTAGATACYTGDGCVCCCAT- 3'	71.2
Rhinovirus B (RV-B) Lu et al. [20]	HRVB-F	5'- ACTCTGGTACTATGTACCTTTGTACGCCTGTT- 3'	71.2
	HRVB-R	5'- CCACTCTTCTGTGTAGACACYTGDGCDCCCAT- 3'	73.8
Rhinovirus C (RV-C) Sikazwe et al. [19]	IrlonS-F	5'- GCACTTCTGTTTCCCC-3'	50.9
	RV-TYPE-C-P3	FAM- CCGCGTGGTGCCC – TAMRA	48
	EntA-R	5'- GCATTCAGGGGCCGGAG-3'	58.9