

## Estudio prospectivo sobre los patrones epidemiológicos de presentación de las Infecciones Respiratorias Agudas de etiología viral en la población infantil (1995-2004)

Jordi Reina

### Introducción

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) son una de las patologías más frecuentes a lo largo de la edad infantil. La etiología de estas entidades puede ser muy amplia, pero los virus son en general los agentes implicados de una forma más frecuente. De este modo debe considerarse a las IRAs de etiología viral como una de las más importantes patologías que afectan a la población infantil, preferentemente durante el período de lactancia (menores de 2 años) (1). De los diferentes virus implicados el virus respiratorio sincitial (VRS) es considerado a nivel mundial como el principal agente etiológico. Alrededor del 60-80% de los casos con diagnóstico etiológico están causados por este virus (1-4). Sin embargo existen otros agentes víricos que también participan en este proceso infeccioso, aunque casi siempre, con un porcentaje de implicación e incidencia mucho más bajo. Estos virus (virus gripales o influenza, adenovirus y parainfluenza) se repartirían el 25-30% de la etiología restante aunque variarían ampliamente dependiendo de la zona geográfica y de las características epidemiológicas de la población infantil (1-5).

Debido a la importancia clínica y epidemiológica de estos procesos respiratorios agudos y a la necesidad de adecuar los recursos diagnósticos y sanitarios a su prevalencia, hemos realizado un estudio prospectivo analizando los patrones epidemiológicos de los principales virus aislados en muestras respiratorias pertenecientes a pacientes pediátricos menores de 2 años con un diagnóstico clínico de IRA.

### Material y métodos

Se ha realizado un estudio prospectivo durante el período comprendido entre enero de 1995 y

diciembre de 2004 (aunque en el caso de los virus gripales hasta junio de 2005) sobre la etiología vírica de los niños menores de 2 años con un cuadro clínico de IRA.

Las muestras analizadas han sido aspirados nasofaríngeos y en ocasiones frotis faríngeos. La detección antigénica frente al VRS se realizó mediante un sistema de ELISA comercial (Directigen RSV; Becton & Dickinson, USA). Desde el año 2000 a las todas las muestras VRS-negativas se les realizó la detección antigénica frente al virus influenza A e influenza B mediante un método ELISA comercial (Directigen FluA+B; Becton & Dickinson, USA).

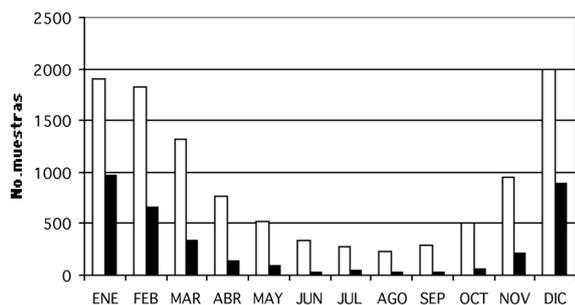
Las muestras que fueron positivas en la prueba de detección antigénica frente al VRS sólo fueron sembradas para el aislamiento de este virus (línea celular Hep-2; Vircell, Granada) y siguiendo la metodología shell-vial. A los 2 días de incubación a 36°C los viales eran revelados mediante una iIFD con un anticuerpo monoclonal contra el VRS (Monofluokit RSV, Pasteur Diagnostics).

El resto de las muestras fueron inoculadas en 2 viales de la línea celular Hep-2 (VRS y adenovirus), 2 viales de la línea celular MDCK (virus influenza A e influenza B), 2 viales de la línea celular LLC-MK2 (virus parainfluenza 1,2 y parainfluenza 3) y un vial de la línea celular MRC-5 (enterovirus). La búsqueda de enterovirus en muestras respiratorias sólo se realizó a partir de 1998. La investigación de citomegalovirus (CMV) sólo se realizó en pacientes ingresados en alguna unidad de cuidados intensivos o en muestras tomadas en maniobras pulmonares invasivas (BAS, BAL y LBA). En estos casos se inocularon las muestras en 2 viales de la línea MRC-5 que se dejaron incubar 3 y 5 días. Los viales fueron fijados con acetona o metanol y revelados con anticuerpos monoclonales dirigidos contra cada uno de los distintos virus mediante una técnica de IFI (Monofluokit, Pasteur Diagnostics).

Se ha estudiado la distribución de las muestras, positividad y aislamiento de los virus en función de los meses del año. En algunos virus (VRS y gripales) se ha analizado su distribución anual pero en disposición epidémica (julio-junio). En el caso del VRS y de los virus gripales el estudio ha abarcado hasta junio de 2005 para poder establecer su aislamiento y distribución en las diferentes temporadas epidémicas anuales (octubre-marzo).

### Resultados

A lo largo del estudio se han analizado 10.937 muestras respiratorias, de los cuales 3.503 (32.1%) fueron considerados como positivas. El número de muestras ha ido incrementándose a lo largo del estudio pasando de 401 en 1995 a 1.823 en 2004 ( $p < 0.05$ ) lo cual representa un incremento del 454%. El porcentaje medio de positividad ha mostrado diferencias a lo largo del estudio pasando del 48.3% en 1995 al 18.4% en 2004 ( $p < 0.05$ ) (Gráfica 1).

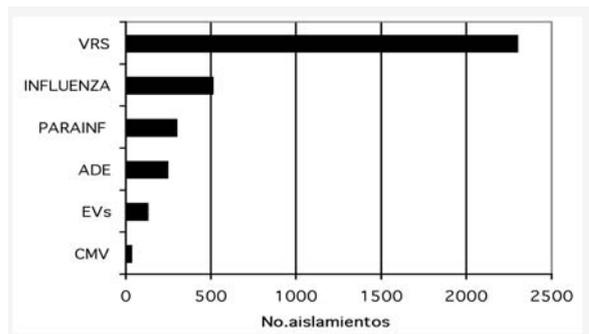


Gráfica 1. Evolución acumulada del total de muestras respiratorias estudiadas (columnas blancas) y de las muestras consideradas como positivas (columnas negras)

Las muestras respiratorias se han acumulado preferentemente entre los meses de noviembre y marzo, representando el 72.9% de todas ellas. Los mayores porcentajes globales de positividad se han obtenido en los meses de diciembre a febrero, siendo el mes de enero el que ha mostrado el máximo porcentaje de positividad del 50.9%. Se ha observado una diferencia significativa entre el número de muestras estudiadas y su porcentaje de positividad entre los primeros 5 años (3.363 muestras y 40.3%) y los últimos 5 años del estudio (7.574 muestras y 28.3%) ( $p < 0.05$ ).

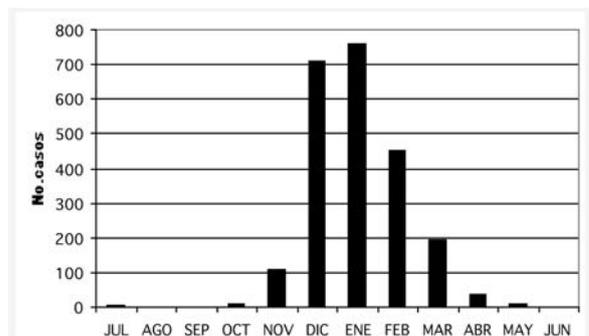
A lo largo del estudio se han aislado 3.503 virus, lo cual representa el 32.1% del total de las muestras

procesadas. Se han aislado 2.300 VRS lo que representa el 65.6% de todos los cultivos positivos. Del mismo modo se han aislado 510 virus gripales (385 Influenza A y 125 B) representando el 14.5% y el 4.6%; 294 virus parainfluenza (27 serotipos 1,2 y 267 serotipo 3) representando el 8.3% y el 2.6%; 240 adenovirus representando el 6,8% y el 2.2%; 124 enterovirus representando el 3.5% y el 1.1%; y 35 CMV representando el 0.9% y el 0.3% respectivamente (Gráfica 2).



Gráfica 2. Principales virus aislados en las muestras respiratorias estudiadas.

El VRS ha sido el virus aislado con un mayor porcentaje global (65.6%), aunque éste ha variado a lo largo del estudio; así el VRS representó el 81.9% de los virus en 1995 y el 18.4% en 2004 ( $p < 0.05$ ). Las mayores tasas de aislamiento del VRS se han presentado entre los meses diciembre-febrero de cada año, mostrando su marcado carácter epidémico (Gráfica 3). Se ha observado un cambio significativo en la presentación mensual epidémica del VRS, así en el período 1995-1998 los picos máximos correspondían a los meses de enero y febrero, mientras que a partir de 1999 se ha observado desplazamiento del mes de presentación máxima hacia diciembre.



Gráfica 3. Distribución mensual acumulada de los casos de IRA causados por el virus respiratorio sincitial (VRS).

Los virus gripales (Influenza A y B) han representado el segundo grupo etiológico viral (14.5%) aislado a lo largo del estudio, presentando un porcentaje estadísticamente inferior ( $p < 0.05$ ) al VRS. Los virus gripales han predominado en los meses invernales (diciembre-marzo) con un predominio en los meses de enero (31,5%) y febrero (24.5%) (Gráfica 4). De los 510 virus gripales aislados 385 (75.5%) pertenecían al tipo A y 125 (24.5%) al tipo B ( $p < 0.05$ ). Las cepas del virus influenza A fueron subtipadas perteneciendo 333 (86.5%) al subtipo H3N2 y 52 (13.5%) al subtipo H1N1 ( $p < 0.05$ ).

A lo largo de los años se ha observado un descenso en las tasas de aislamiento del VRS y un incremento significativo del aislamiento de los virus gripales, especialmente a partir de la temporada 1999-2000 con la puesta en marcha de la Red de Vigilancia de la Gripe en la Comunidad Balear (RVG). Esta es la causa de que en el año 2003 el porcentaje de aislamiento de los virus gripales fuera muy cercano (36.2%) al del VRS (39.6%) ( $p > 0.05$ ).

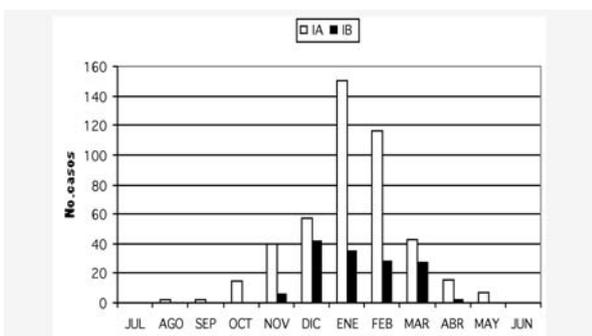
Los virus Parainfluenza 1, 2 y 3 han representado globalmente el 8.3% de todos los virus aislados. De los 294 casos, 267 (90.8%) correspondían al serotipo 3 y 27 (9.2%) al serotipo 1+2 ( $p < 0.05$ ). Se ha observado un incremento significativo en el aislamiento del virus parainfluenza del 333% desde el inicio del estudio ( $p < 0.05$ ) y entre los primeros y últimos cinco años del estudio. La distribución mensual acumulada de estos virus demuestra su predominio en los meses posteriores a las epidemias de VRS y gripe y su mantenimiento a lo largo del año (incluso en verano) alcanzando un segundo pico máximo en los meses invernales (Gráfica 5). El cuarto grupo etiológico viral lo han constituido

los adenovirus con 240 aislamientos y el 6.8% de las muestras positivas. Se ha observado un incremento significativo en el número de casos de infección respiratoria por adenovirus a lo largo del estudio; así en 1995 se aislaron 6 cepas mientras que en 2004 fueron 45 cepas (+750%) ( $p < 0.05$ ).

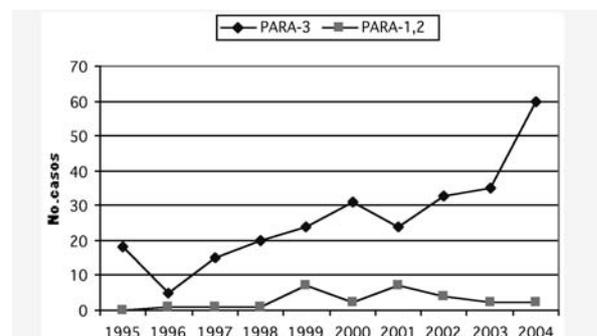
Los virus Parainfluenza 1, 2 y 3 han representado globalmente el 8.3% de todos los virus aislados. De los 294 casos, 267 (90.8%) correspondían al serotipo 3 y 27 (9.2%) al serotipo 1+2 ( $p < 0.05$ ). Se ha observado un incremento significativo en el aislamiento del virus parainfluenza del 333% desde el inicio del estudio ( $p < 0.05$ ) y entre los primeros y últimos cinco años del estudio. La distribución mensual acumulada de estos virus demuestra su predominio en los meses posteriores a las epidemias de VRS y gripe y su mantenimiento a lo largo del año (incluso en verano) alcanzando un segundo pico máximo en los meses invernales (Gráfica 5).

El cuarto grupo etiológico viral lo han constituido los adenovirus con 240 aislamientos y el 6.8% de las muestras positivas. Se ha observado un incremento significativo en el número de casos de infección respiratoria por adenovirus a lo largo del estudio; así en 1995 se aislaron 6 cepas mientras que en 2004 fueron 45 cepas (+750%) ( $p < 0.05$ ). Los adenovirus han predominado en los meses invernales y de primavera con un pico máximo de aislamientos en el mes de marzo (17.5%) (Gráfica 6).

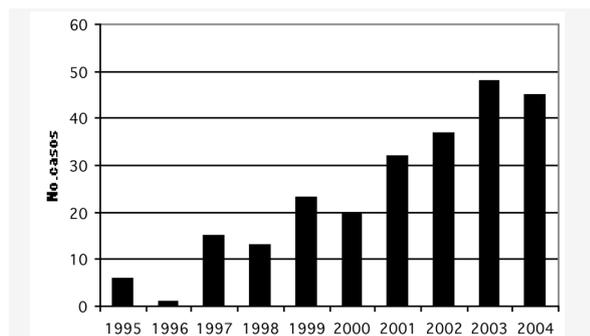
Los Enterovirus y el CMV no suelen considerarse como virus respiratorios pero pueden aislarse en estas muestras. Sólo se inició el estudio rutinario de los enterovirus en muestras respiratorias a partir del año 1998 observándose un incremento significativo de los mismos, pasando de 3 casos en este año a 21 en el año 2004 (+700%) ( $p < 0.05$ ).



Gráfica 4. Distribución mensual acumulada de los aislamientos correspondientes a los virus gripales.



Gráfica 5. Aislamientos acumulados y evolutivos de los diferentes serotipos de los virus Parainfluenza.



Gráfica 6. . . Aislamiento de adenovirus a lo largo del estudio epidemiológico.

Los CMV sólo se han estudiado en muestras de pacientes ingresados en la UCI de modo que los casos aislados no representan la tasa real sobre el total de muestras estudiadas. A pesar de ello los 35 casos representan cerca del 1% de los positivos; observándose amplias variaciones en su aislamiento a lo largo de los años.

## Discusión

Dado el marcado carácter epidémico de la mayoría de infecciones respiratorias víricas, es lógico que el mayor número de pacientes se acumulen en los meses correspondiente al pico epidémico. En nuestro caso los meses invernales (desde noviembre a marzo) se han constituido como aquellos que aportaban una mayor cantidad de muestras respiratorias (mayores tasas de prevalencia de las IRAs) (6,7). También en estos meses se han obtenido los porcentajes más elevados de positividad viral, coincidiendo con las epidemias anuales de infección por el VRS y los virus gripales (2,7). Aunque la media de positividad global de todo el estudio ha sido del 32.1%, el mes de enero ha presentado una positividad acumulada del 50.9% por encima de la observada en el mes de diciembre (44.2%) y significativa en relación a los otros meses del año (1-7).

El VRS ha sido el virus aislado con una mayor frecuencia en los pacientes con IRA coincidiendo con las epidemias invernales anuales (7,8). El patrón epidemiológico del VRS es bien conocido desde hace mucho tiempo y por lo tanto previsible (8,9). Durante el período epidemiológico 1995-1998 la onda epidémica anual causada por el VRS se iniciaba en enero alcanzaba el pico máximo en febrero y descendía a partir de marzo (9,10). Sin embargo en la temporada 1999-2000, observamos como la onda epidémica viral anual se adelantaba al mes de diciembre y luego empezaba a descender; el mismo

patrón epidemiológico se observó en las temporadas siguientes y persiste en la actualidad. De este modo en estos momentos la temporada epidémica anual del VRS se inicia intensamente en diciembre y el pico máximo se produce este mes o enero (11,12).

Los virus gripales (influenza virus A y B) también se presentan epidemiológicamente como ondas durante los meses de invierno, aunque en general lo hacen un poco más retrasados que el VRS (1,13). Sin embargo ambos virus coinciden en los meses de enero y febrero de modo que durante los mismos es clínicamente imposible distinguir las IRAs causadas por estos virus (1,2). En los últimos años hemos observado un incremento en la incidencia de las bronquiolitis y otras infecciones respiratorias causadas por los virus gripales (13,14). Prueba de este incremento es que globalmente se constituyen en nuestra zona geográfica como el segundo grupo vírico causante de bronquiolitis y eso a pesar de que tan sólo se puede detectar su presencia seis meses al año (15,16). En la temporada 1999-2000 se creó la RVG en la Comunidad Balear. Debido a ello se ha observado un incremento de casos de gripe a partir de esta temporada.

El número de casos de gripe detectados en cada temporada es muy variable y va a depender de las características antigénicas de la cepa circulante y su similitud con la incluida en la vacuna antigripal recomendada. Así mismo hemos podido observar como el virus Influenza A e Influenza B han presentado y presentan unos patrones epidemiológicos bastante distintos. El virus Influenza A está presente siempre en cada temporada gripal, con mayor o menor tasas de ataque en función del subtipo predominante (H3 o H1). El virus Influenza B se ha presentado de forma epidémica cada 2 años aproximadamente. Además de este comportamiento epidemiológico, las tasas máximas alcanzadas por el virus Influenza B son casi siempre inferiores a las del virus Influenza A y con una menor morbilidad en las personas infectadas (14,17). Sin embargo la aparición de un tipo antigénico nuevo a nivel mundial del virus Influenza B en la temporada 2002-2003 (B/Hong Kong/330/01) determinó que este virus alcanzara la tasa más elevada de infección comunitaria conocida en nuestra zona geográfica. El virus de la parainfluenza está constituido por cuatro serotipos, sin embargo el subtipo 3 es el prevalente en la patología respiratoria, mientras que los otros serotipos (preferentemente el 1 y 2) predominan en las laringitis, laringotraqueitis y sobre todo en el croup (1,18,19).

De los 294 virus de la parainfluenza aislados, 267 (90.8%) pertenecían al serotipo 3 y 27 (9.2%) a los serotipos 1,2, coincidiendo con otros estudios (19,20). El número de casos causados por el virus parainfluenza se ha incrementado significativamente en los últimos años pasando de 18 casos en 1995 a 60 casos en el año 2004 (+333%) ( $p < 0.05$ ). Cabe destacar que 19 (70%) de los 27 casos causados por el virus parainfluenza serotipos 1,2 se produjeron en el trimestre octubre-diciembre, lo cual confirma su prevalencia en los meses invernales previos a las epidemias ya descritas (19,20).

Aunque el virus parainfluenza puede aislarse a lo largo del año, se observa un predominio claro y significativo en los meses de primavera-verano (abril-mayo), siendo en este período en el que alcanza la mayor incidencia (18). Estudios previos ya habían observado este fenómeno y el hecho demostrado que el virus parainfluenza emerge como patógeno ocupando el nicho ecológico viral una vez que el VRS y los virus gripales desaparecen en la comunidad (20). A pesar de su predominio en estos meses hemos detectado un segundo pico de máxima incidencia al inicio del invierno (noviembre y diciembre), a expensas de los casos causados por los serotipos 1,2, solapándose con el inicio de la epidemia del VRS (19,20).

Los adenovirus constituyen un grupo vírico responsable de la etiología de una gran variedad de cuadros clínicos en la infancia. Los adenovirus son los causantes del 5-24% de las infecciones respiratorias en los niños de menos de 5 años, disminuyendo su incidencia a medida que aumenta la edad (1,2,21). Los adenovirus se han presentado como el grupo viral causante de IRA de menor prevalencia (6.8%) detectado a lo largo de este estudio, aunque su tasa de aislamiento se ha incrementado significativamente en los últimos años pasando de 6 casos en 1995 a 45 casos en el año 2004 (+750%) ( $p < 0.05$ ). Estos virus han mostrado un comportamiento irregular a lo largo del año, aunque su prevalencia máxima a correspondido al primer trimestre del año, solapándose con el VRS y los virus gripales (21,22).

Aunque existen muchos estudios sobre la mayoría de infecciones por enterovirus, no es así sobre su participación en las infecciones respiratorias tanto del tracto superior como inferior. Estudios clásicos, sin embargo, parecen indicar que los enterovirus son los principales agentes etiológicos de las enfermedades respiratorias agudas durante los meses de verano (23), pudiendo llegar a representar entre el 23-27% de todos los virus en este período anual (2,23). Aunque si se realiza un estudio sobre su

significado a lo largo de todo un año, se puede observar como su participación en las infecciones respiratorias es del 4-6% (24).

Dentro de las patologías producidas por CMV, las infecciones respiratorias son poco frecuentes y casi siempre se presentan en pacientes inmunodeprimidos o con patologías de base predisponentes (25). El porcentaje de aislamiento de CMV en muestras respiratorias es  $< 10\%$ , aunque en la mayoría de ocasiones no presenta un significado patológico evidente (1,25). La investigación de CMV en muestras respiratorias no se ha realizado de una forma rutinaria en las 10.937 muestras, de modo que el porcentaje de positividad asignado es sólo aproximativo. Cada año detectamos 2-4 casos nuevos de infección respiratoria por CMV afectando preferentemente a niños con infección congénita por el propio CMV, inmunodeprimidos (HIV-positivos) o post-transfusionales. La implicación del CMV en la patología respiratoria es en muchos casos difícil de demostrar, pero debe considerarse como patógeno en ausencia de otros microorganismos reconocidos (26).

## Bibliografía

1. Palumbo PE, Douglas RG. Respiratory tract infections. En: Specter S, Lanz GJ, editores. Clinical virology manual. Elsevier, New York, 1986, p.263-282.
2. Hall CB, McBride JT. Bronchiolitis. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds.). Principles and practice of infectious diseases (5th). Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000 p.710-717,
3. Welliver RC. Bronchiolitis and infectious asthma. En: Feigin RD, Cherry JD (eds.). Textbook of pediatric infectious diseases (4th). WB Saunders Co., Philadelphia, 1998 p.249-259.
4. Hall CB. Respiratory Syncytial virus. En: En: Feigin RD, Cherry JD (eds.). Textbook of pediatric infectious diseases (4th). WB Saunders Co., Philadelphia, 1998 p.2084-2110.
5. Chang TC, Wang CL, Han HL. Etiologic and clinical investigation of bronchiolitis. Chinese Med J 1978; 4:135-141.
6. Taussing LM, Wright AL, Morgan WJ, Harrison HR, Ray CG. The Tucson children's respiratory study. I. Design and implementation of a prospective study of acute and chronic respiratory illness in children. Am J Epidemiol 1989; 129:1219-1231.

7. Wright AL, Taussing LM, Ray CG, Harrison HR, Holberg CJ. The Tucson children's respiratory study. II. Lower respiratory tract illness in the first year of life. *Am J Epidemiol* 1989; 129:1232-1246.
8. Henderson FW, Collier AM, Clyde WA, Denny FW. Respiratory syncytial virus infections, reinfections and immunity: a prospective, longitudinal study in young children. *New Engl J Med* 1979; 300:530-534.
9. Brandt CD, Kim HW, Arrobio JO, Jeffries BC, Wood SC, Chanock RM, Parrott RH. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington DC. *Am J Epidemiol* 1973; 98:355-364.
10. McIntosh K. Respiratory syncytial virus. En: Evans AS, Kaslow RA (eds). *Viral infections of humans. Epidemiology and control* (4th). Plenum Medical Book Co., New York, 1997 p.691-711.
11. Reina J, Ballesteros F, Mari M, Subirats M, Munar M. Modificación epidemiológica del brote anual de infección por el VRS (1998-1999). VI Congreso Nacional de Virología. Madrid, 1999. Libro de Comunicaciones Abstract No.P7-04, p.167.
12. Ortiz de Lejarazu R, de Prada A, Labayru C, Ortega M, Eiros JM, Moreno M, Rodríguez Torres A. Infecciones por virus respiratorio sincitial durante el período 1990-2000. VII Congreso Nacional de Virología. Valencia, 2001. Libro de Comunicaciones Abstract No.P4.02, p.145.
13. Mullooly JP, Barker WH. Impact of type A influenza on children: a retrospective study. *AM J Public Health* 1982; 72:1008-1016.
14. Reina Prieto J, M.J.Ros Aranda MJ, Del Valle Millan M. Características clínicas y virológicas de las infecciones respiratorias causadas por el virus Influenza A. *Rev Esp Pediatr* 1996; 52:315-319.
15. Reina J, García C, Ferres F, Alberto C, del Valle JM, Munar M. Características clínicas de las infecciones respiratorias causadas por el virus Influenza tipo B. *Rev Esp Pediatr* 1998; 54:308-312.
16. Reina J, Ballesteros F, Mesquida X, Galmes M, Ferres F, Ruiz de Gopegui E. Bronquiolitis causadas por el virus Influenza tipo A. Una enfermedad infecciosa emergente. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19:467-470.
17. Reina J, Ballesteros F, Ferres F, Figuerola J, Mesquida X, Galmes M. Correlación entre los subtipos H3N2 y H1N1 del virus influenza A y los diferentes tipos de patología respiratoria. *Rev Esp Pediatr* 2001; 57:164-168.
18. Glezen WP, Frank AL, Taber LH, Kasel JA. Parainfluenza virus type 3: seasonality and risk of infection and reinfection in young children. *J Infect Dis* 1984; 150:851-857.
19. Glezen WP, Denny FW. Parainfluenza viruses. En: Evans AS, Kaslow RA (eds). *Viral infections of humans. Epidemiology and control* (4th). Plenum Medical Book Co., New York, 1997 p.551-567.
20. Reed G, Jewett PH, Thomson J, Tollefson S, Wright PF. Epidemiology and clinical impact of parainfluenza virus infections in otherwise healthy infants and young children <5 years old. *J Infect Dis* 1997; 175:807-813.
21. Ruuskanen O, Meurman O, Akusjarvi G. Adenoviruses. En: Richman D, Whitley RJ, Hayden FG (ed). *Clinical Virology*. Churchill Livingstone. New York, 1997 p.525-547.
22. Ballesteros F, Reina J, Ferres F, Figuerola J, Alberto C, Mari M, Munar M. Análisis de las características clínicas y virológicas de los pacientes con aislamiento de adenovirus en muestras respiratorias. *Rev Esp Pediatr* 2000; 56:225-230.
23. Chonmaitree T, Mann L. Respiratory infections. En: Rotbart HA, editor. *Human enterovirus infections*. American Society for Microbiology, Washington. 1995, p.255-272.
24. Reina J, Ferres F, Gonzalez Cardenas M, Ruiz de Gopegui E, Alonso F, Padilla E. Aislamiento de poliovirus vacunales en diferentes muestras clínicas (1997-2002). *Rev Esp Pediatr* 2003; 59:492-495
25. Demmler GJ. Acquired cytomegalovirus infections. En: Feigin RD, Cherry JD, editores. *Textbook of pediatric infectious diseases*. 3ª edición. Philadelphia. WB Saunders, 1992, p.1532-1543.
26. Reina, J Ballesteros F, Figuerola J, Ferres F, Balliu P, Munar M, Mari. M Análisis del significado clínico y virológico del aislamiento de citomegalovirus en muestras del tracto respiratorio. *Rev Esp Pediatr* 1999; 55:240-245.