

Etiología viral de las infecciones agudas del tracto respiratorio inferior en Cuba

Viral etiology of the acute infections of the lower respiratory tract in Cuba

Aned Gordillo Hernández^{1*}

Betsy Acosta Herrera²

Odalys Valdés Ramírez²

¹Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de La Habana. La Habana, Cuba.

²Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí de La Habana. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia (email) anedgordillo@infomed.sld.cu

RESUMEN

Fundamento: las infecciones respiratorias agudas constituyen la causa principal de morbilidad a nivel mundial, al ser sus principales agentes etiológicos los virus respiratorios.

Objetivo: determinar el papel de diferentes virus respiratorios en la causa de la infección respiratoria aguda grave durante el período mayo 2012 - junio 2013, en Cuba.

Métodos: se realizó un estudio analítico transversal, el universo fueron las muestras clínicas recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de Virus Respiratorios del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK) como parte de la vigilancia de las IRA de posible etiología viral, desde el 1 de mayo de 2012 y el 30 de junio de 2013. Se estudiaron 1 604 muestras procedentes de

pacientes de todas las edades con manifestaciones clínicas. Para el diagnóstico se emplearon tres ensayos de TR-RCP múltiple de tipo anidado y un TR-RCP en tiempo real.

Resultados: los rinovirus fueron los agentes más identificados, seguidos de los virus Influenza y del virus sincitial respiratorio. Los de mayor frecuencia en los pacientes con infección respiratoria aguda grave fueron los virus Influenza se demostró asociación significativa (OR 6,437; 95 % IC: 3,407-12,159; $p=0,000$) y en los pacientes <1 año se encontró también asociación con la detección del virus sincitial respiratorio; hubo correlación también en la población de 15-59 años con los virus Influenza ($p=0,000$). El virus Influenza B circuló entre los meses de mayo y septiembre del año 2012, mientras que el virus Influenza A (H1N1) pdm09 predominó en la circulación durante el 2013.

Conclusiones: los resultados de esta investigación permiten esclarecer la contribución específica de los diferentes virus respiratorios en la causa de dicha enfermedad. Al mismo tiempo alertan a los programas nacionales la necesidad de centralizar los esfuerzos de la vigilancia en este tipo de infección para la identificación oportuna de eventos de salud inusitados por los virus Influenza.

DeCS: VIRUS SINCITIALES RESPIRATORIOS; ORTHOMYXOVIRIDAE; INFECCIONES DEL SISTEMA RESPIRATORIO/etiología; RHINOVIRUS; VIRUS DE LA INFLUENZA B.

ABSTRACT

Background: acute respiratory infections are the main cause of mortality and morbidity worldwide, with respiratory viruses as main causative agents.

Objective: to determine the paper of different respiratory viruses in the etiology of the severe acute respiratory infections during the period May 2012- June 2013, in Cuba.

Methods: a transverse analytical study was carried out, the universe there were the clinical samples received in the National Laboratory of Reference (LNR) of Respiratory Viruses of the Institute of Tropical Medicine Pedro Kourí (IPK) as part of the alertness of the IRA of possible viral etiology, from May 1, 2012 and June 30, 2013. There were studied 1 604 samples proceeding from patients of all the ages with clinical declarations. For the diagnosis, there were used three essays of multiple TR-RCP of sheltered type and a TR-RCP in real-time.

Results: rhinoviruses were the agents largely identified, followed by the Influenza viruses and the respiratory syncytial virus. The ones of bigger frequency in patients with severe acute respiratory infection were Influenza viruses demonstrating significant association (OR 6,437; 95 % CI: 3,407-12,159; $p= 0,000$) and in patients <1 year old it was also found association with the detection of respiratory syncytial virus; correlation was also in the population of 15-59 years with the viruses Influenza ($p= 0,000$). The Influenza virus B circulated mainly between the months of May and September of the year 2012, while the virus Influenza A (H1N1) pdm09 predominated during 2013.

Conclusion: the results of this investigation allow explaining the specific contribution of the different respiratory viruses in the etiology of said pathology. At the same time, they alert the national programs of the need to centralize the efforts in vigilance of this type of infection to achieve opportune identification of health events unusual for the viruses Influenza.

DeCS: RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUSES; ORTHOMYXOVIRIDAE; RESPIRATORY TRACT INFECTIONS/etiology; RHINOVIRUS; INFLUENZA B VIRUS.

Recibido:15/01/2018

Aceptado:04/04/2018

Introducción

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) constituyen una de las primeras causas de morbi-mortalidad en niños menores de cinco años, adultos mayores, personas con enfermedad pulmonar crónica y pacientes inmunocomprometidos, tanto en países desarrollados, como en vías de desarrollo. Las mismas generan una gran demanda de los servicios de salud y ocasionan altos costos de atención sanitaria. ⁽¹⁾

La mayoría de las IRA son de origen viral, al encontrarse entre los principales agentes etiológicos: el virus sincitial respiratorio humano (VSRH), los virus influenza (A y B), los virus parainfluenza humanos (VPIH), los adenovirus humanos (AdVH), los rinovirus (RV), los enterovirus (EV) y los coronavirus (CoVH-229E y CoVH-OC43). ^(2,3)

En la mayoría de los casos, los pacientes afectados cursan con una enfermedad leve de manejo ambulatorio. Sin embargo, una proporción importante de los pacientes requieren asistencia médica y hospitalización en unidades de cuidados intensivos (UCI). El diagnóstico de este último grupo de pacientes, para los efectos de la vigilancia epidemiológica se denomina infección respiratoria aguda grave (IRAG). ⁽¹⁾

En Cuba, constituyen una de las primeras causas de consultas a los distintos niveles del Sistema Nacional de Salud. Según el anuario estadístico, en el año 2015 se produjeron 6 635 119 atenciones médicas por IRA, el mayor número de ellas (1 969 242) ocurrió en la población entre 25-59 años de edad, sin embargo, la tasa mayor fue en los lactantes (3 224,0 por 1 000 habitantes). ⁽⁴⁾

Las infecciones agudas del tracto respiratorio inferior (IATRI) de manera usual se presentan con un cuadro clínico que varía de forma considerable entre los diferentes agentes virales, un mismo agente puede ocasionar síndromes diversos, mientras que varios agentes infecciosos pueden producir síndromes no

distinguibles de forma clínica. El diagnóstico definitivo lo proporciona el laboratorio de microbiología, al evitar el uso indiscriminado de antibióticos y establece estrategias para el control de la propagación de estas enfermedades. ⁽⁵⁾ Conocer el papel de los virus respiratorios en la causa de las IRAG como parte de los Programas de Prevención y Control, permite un mejor manejo y tratamiento de los pacientes, una adecuada planificación y utilización de los recursos en las instituciones hospitalarias, así como, detectar cualquier evento inusual asociado a estos agentes para alertar al sistema de salud. ⁽⁶⁾

Al considerar estos antecedentes, este estudio tiene como propósito fundamental conocer la contribución de los diferentes virus respiratorios a la causa de las IATRI, en pacientes cubanos de todas las edades, con énfasis en las IRAG, mediante un algoritmo de diagnóstico molecular, durante el período mayo 2012-junio 2013.

Métodos

Se realizó un estudio analítico transversal, donde el universo fueron todas las muestras clínicas recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de Virus Respiratorios del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK) como parte de la vigilancia de las IRA de posible causa viral, durante el período comprendido entre el 1 de mayo del 2012 y el 30 de junio del 2013. Se estudiaron 1 604 muestras clínicas procedentes de pacientes de todas las edades que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión:

Toda muestra clínica colectada de paciente con diagnóstico de IATRI (laringitis, laringotraqueobronquitis, bronquitis aguda, bronquiolitis, neumonía y bronconeumonía) enviada al LNR durante los primeros 10 días a partir del inicio de los síntomas, acompañada de un modelo de colección de muestras (anexo 1).

Volumen de la muestra suficiente para las determinaciones a realizar, la cual debe estar de manera correcta identificada y transportada al laboratorio a 4 °C en un sistema de triple empaque. Se empleó la definición de caso de IRAG incluida en el Programa Integral de Prevención y Control de las IRA: ⁽¹⁾ Fiebre o historia de fiebre, tos, dificultad para respirar y necesidad de hospitalización.

Las muestras clínicas consistieron en exudados nasofaríngeos (ENF) y aspirados bronquiales (AB) colectados en medio de transporte universal para virus (UTM, siglas del inglés: Universal Transport Medium) transportadas hacia el IPK en un sistema de triple empaque a 4 °C, identificadas y acompañadas del modelo de colección ya referido.

Fueron excluidas todas las muestras que no cumplieron con los criterios de inclusión.

Métodos para el procesamiento de las muestras clínicas

1.Extracción de ácidos nucleicos.

El ácido nucleico total ARN/ADN se obtuvo mediante extracción automática, se empleó el extractor automático QIAcube™ (Qiagen, EUA). Para realizar este procedimiento se utilizaron los materiales gastables y reactivos contenidos en los estuches comerciales recomendados para la extracción de ácidos nucleicos en dicho equipo: QIAamp Viral RNA minikit (Qiagen, EUA) y QIAamp Viral DNA mini kit (Qiagen, EUA). Para la preparación de los reactivos se tuvo en cuenta las instrucciones del fabricante.

2.Diagnóstico molecular para la detección de un segmento del genoma viral.

Para el diagnóstico de virus respiratorios se emplearon tres ensayos de transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (TR-RCP) múltiple de tipo anidado (TR-RCP Múltiple 1 para la detección de influenza A, influenza B, influenza C y AdVH), (TR-RCP Múltiple dos para la detección de VPIH 1-4, CoVH-OC43, CoVH-229 E, RV y EV), (TR-RCP Múltiple tres para la detección de VSRH A y B, MPVH y BoVH). ⁽⁷⁾

3. Detección de los productos de amplificación.

Para la detección de los productos de amplificación se realizó una corrida de electroforesis a 90V durante una hora, se empleó como marcador de peso molecular el DNA *ladder* 100 bp (Promega), con un rango entre 100 y 1 000 pb. La visualización de los productos de amplificación se realizó por exposición del gel a la luz ultravioleta en un transiluminador (Spectroline® Bi-O-Vision™). Los procedimientos para la preparación de las mezclas de reacción, extracción de ácidos nucleicos, reacciones de amplificación y chequeo de los productos de amplificación se realizaron con todas las recomendaciones establecidas para evitar las contaminaciones. ⁽⁸⁾

4. Subtipado del virus Influenza A (H3) mediante TR-RCP anidada para la amplificación de un segmento del gen de la HA.

El protocolo designado empleó cebadores para la amplificación del gen completo de la HA. La mezcla de la reacción se realizó con el empleo del estuche comercial OneStep RT-PCR (Qiagen), al seguir las instrucciones del productor. La reacción de TR-RCP se desarrolló a 50 °C durante 45 minutos, seguida por un paso de inactivación de la enzima TR a 95 °C durante 15 minutos, seguido de 45 ciclos de amplificación consistentes en: 94 °C durante 30 segundos, 50 °C por 30 segundos y 72 °C por 2 minutos, seguida por una extensión final de 72 °C por cinco minutos, se usó el equipo termociclador Mastercycler personal (Eppendorf). ⁽⁹⁾

En la RCP anidada, se emplearon los juegos de cebadores específicos para la amplificación de un segmento de la subunidad HA1 del gen que codifica para la glicoproteína HA de los virus influenza A (H3) publicados previamente. ⁹ Esta se realizó a 95 °C durante tres minutos, seguido de 35 ciclos de amplificación consistentes en: 94 °C durante 30 segundos, 52 °C por dos minutos y 72 °C por 30 segundos, seguida por una extensión final de 72 °C por cinco minutos y se usó el equipo termociclador Mastercycler personal (Eppendorf).

Todos los procedimientos se realizaron según las recomendaciones establecidas para evitar las contaminaciones. ⁽⁸⁾

La detección de los productos amplificados se realizó mediante el procedimiento descrito en el acápite tres.

1. TR-RCP en tiempo real para el diagnóstico de influenza A (H1N1) pdm09.

Para la detección de un segmento del genoma del virus influenza A (H1N1) pdm09, el ácido nucleico extraído se procesó de acuerdo al protocolo de RCP en tiempo real desarrollado por el Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta, EUA (CDC, siglas del inglés *Control Diseases Center*). ⁽¹⁰⁾

La reacción de amplificación se llevó a cabo a 50 °C durante 30 minutos, seguida de un paso de inactivación de la enzima TR a 95 °C durante dos minutos, y 45 ciclos de amplificación consistentes en: 95 °C durante 15 segundos y 55 °C por 30 segundos en un equipo Applied Biosystem real-time PCR systems modelo 7500 Fast (Applied BioSystem). El producto de la reacción se analizó a través del programa Fast System SDS versión 2.0.1.

Recolección, procesamiento y análisis estadístico de la información

Los datos clínicos y demográficos se tomaron del modelo de colección de muestras, los cuales fueron recogidos en una base de datos en Microsoft Excel para análisis posterior. Para determinar la posible relación de los virus respiratorios circulantes con la IRAG según las características clínicas y demográficas de la población objeto de estudio, se aplicó la prueba Chi-Cuadrado de Pearson. Se utilizó el programa SPSS versión 19. Se consideraron valores significativos de $p \leq 0.05$ con un Intervalo de confianza (IC) de un 95 %.

Aspectos éticos

El estudio etiológico de las IRAG constituye una tarea de investigación de los Laboratorios Nacionales de Referencia para los virus influenza y otros virus respiratorios; y forma parte de un proyecto de investigación que fue aprobado

por la Comisión Científica Especializada de Microbiología, el Consejo Científico Institucional, el Comité de ética, las autoridades correspondientes del Ministerio de Salud Pública (MINSAP) y del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente.

Los resultados diagnósticos de la identificación de los virus respiratorios forman parte de la vigilancia nacional de los laboratorios nacionales de referencia (LNR) y son informados a la Dirección Nacional de Epidemiología (DNE), médicos de asistencia y pacientes o tutores. Toda la información obtenida fue muy confidencial y se utilizó con fines investigativos, se garantizó la seguridad del paciente.

Resultados

Identificación de los diferentes virus respiratorios en la etiología de las IATRI

En el período comprendido entre mayo 2012 y junio 2013 se estudiaron un total de 1 604 muestras clínicas respiratorias (1 574 ENF y 30 AB) procedentes de pacientes hospitalizados, en edades comprendidas entre cinco días y 105 años, con diagnóstico clínico de IATRI de posible causa viral. Las mismas se procesaron mediante el algoritmo de diagnóstico molecular establecido en los LNR para los virus influenza y otros virus respiratorios del IPK. Se consideró la edad de los pacientes, las muestras clínicas estudiadas procedentes de los mismos se dividieron en cinco grupos de edades (tabla 1).

Tabla 1. Distribución de las muestras clínicas por grupos de edades

Grupos de edades	No de muestras	%
<1 año	448	27,93
1- 4 años	378	23,56

5- 14 años	204	12,71
15- 59 años	331	20,64
60 años y más	243	15,14
Total	1 604	100

Fuente: Registro del LNR para virus respiratorios del IPK

En el análisis de las muestras procesadas según los grupos de edades, se observó que el mayor porcentaje correspondió al grupo <1 año (27,93 %). No es sorprendente que el 51,49 % de las muestras pertenecieron a niños menores de cinco años de edad, ya que es conocido que en este grupo de población pediátrica se detectan los mayores índices de morbilidad por IRA. Con relación al diagnóstico clínico presuntivo se comprobó que el 83,66 % ($n=1\ 342$) de las muestras procedieron de pacientes con IRAG (tabla 2).

Tabla 2. Distribución de las muestras según el diagnóstico clínico

Tipo de diagnóstico clínico	No de muestras	%
IRAG*	1 342	83,66
Laringitis	10	0,62
Laringotraqueobronquitis	7	0,43
Bronquitis	36	2,24
Bronquiolitis	209	13,02
Total	1 604	100

Fuente: Registro del LNR para virus respiratorios del IPK

Leyenda: *Infección Respiratoria Aguda Grave

La aplicación de varios ensayos de diagnóstico molecular, permitió identificar un segmento del genoma, para uno de los virus respiratorios investigados en el 46,75 % (750/1 604) de las muestras clínicas estudiadas. Resultados similares se encontraron en diferentes estudios donde el rango de detección fue entre un 36 % y un 58 %. ^(11,12) El alto porcentaje de positividad a los virus respiratorios confirman que estos son los agentes etiológicos de una proporción notable de los casos de IATRI.

Los RV fueron los agentes identificados con mayor frecuencia (28,93 %), seguido de los virus influenza (25,85 %) y del VSRH (20,13 %). Estos resultados coinciden con los encontrados por Goka EA et al. ⁽¹³⁾ Por otro lado, la positividad a los virus respiratorios en Inglaterra en el período 2002-2008, demostró que los agentes predominantes fueron los virus influenza y el VSRH. ⁽¹⁴⁾ Los VPIH, el BoVH, los EV, los AdvH y el CoVH-229E también se detectaron (tabla 3).

Tabla 3. Positividad a los virus investigados según diagnóstico clínico

Agente/Diag.	IRAG*	Bronquiolitis	Laringitis	CRUP	Bronquitis Aguda	Total	%
RV	170	33	1	2	11	217	28,93
VPIH ¹	69	9	3	1	2	84	11,2
VSRH ²	69	80	-	-	2	151	20,13
MPVH	18	2	-	-	-	20	2,66
FA ³	115	5	-	1	4	125	16,66
FB	67	-	-	-	1	68	9,06
FC	1	-	-	-	-	1	0,13
EV	25	1	1	-	-	27	3,6
BoVH	28	4	-	-	1	33	4,4
AdvH	13	-	-	-	2	15	2
CoVH 229E	8	1	-	-	-	9	1,2
TOTAL	583	135	5	4	23	750	100

Fuente: Registro del LNR para virus respiratorios del IPK

Leyenda: *Infección Respiratoria Aguda Grave, ¹Incluye los virus para influenza 1 al 4, ² Incluye los virus sincitial respiratorio A y B, ³ Incluye los virus influenza A (H3N2) e influenza A (H1N1) pdm09.

Los virus influenza estacionales (influenza A(H3N2), influenza A(H1N1) e influenza B) se asocian con una elevada morbilidad y mortalidad, en especial en niños menores de cinco años y en adultos ≥ 65 años de edad que constituyen grupos prioritarios para la aplicación anual de la vacunación. Sin embargo, en este trabajo los virus influenza predominaron en los pacientes comprendidos en el grupo de edad entre 15 y 59 años como se pudo observar en figura 1.

Dangi T et al. ⁽¹⁵⁾ en el período postpandémico (2010-2012) en la India detectaron a estos virus como los predominantes en este mismo grupo de edad. Un estudio reciente en Corea del Sur evidenció la mayor positividad a los virus influenza en el grupo de edad de 19 a 64 años. ⁽¹⁶⁾ Este resultado podría estar relacionado con el hecho de que el virus influenza más representado en las muestras positivas fue el influenza A (H1N1) pdm09 para el cual se ha descrito desde su emergencia que afecta a las personas entre 15 y 59 años.

Una posible explicación al hallazgo mencionado previamente estaría relacionada con que en este grupo se encuentra el mayor número de personas que no están incluidas en los grupos priorizados para la vacunación anti-influenza. Por otro lado, existen resultados documentados sobre la alta incidencia y carga de enfermedad por influenza en la población adulta. ⁽¹⁷⁾

El VSRH es el patógeno más importante que causa IATRI en lactantes y niños menores de cinco años, con diagnóstico clínico de bronquiolitis y neumonía. En el estudio, este agente causó un elevado número de IATRI en especial en los niños menores de un año de edad. Se tuvo en cuenta el diagnóstico clínico, se encontró el 52,98 % de los pacientes con bronquiolitis y el 45,70 % de los diagnosticados con IRAG.

Relación de la positividad a virus respiratorios circulantes en pacientes con IRAG según las características clínicas y demográficas

De las 1 604 muestras procesadas, 1 342 resultaron ser colectadas de pacientes con IRAG. El 43,44 % ($n=583$) de las mismas resultaron positivas a uno de los virus identificados y los diagnósticos clínicos presentes fueron neumonía (326) y bronconeumonía (257) (tabla 4).

Tabla 4. Positividad a los virus investigados en las muestras de pacientes con IRAG

No de muestras positivas según diagnóstico clínico de IRAG

Agente viral	neumonía	bronconeumonía	Total	%
RV	108	62	170	29,16
VPIH	41	28	69	11,84
VSRH	31	38	69	11,84
Influenza A*	60	55	115	19,73
Influenza B	40	27	67	11,49
Influenza C	-	1	1	0,17
MPVH	7	11	18	3,09
EV	14	11	25	4,29
BoVH	16	12	28	4,80
AdVH	5	8	13	2,22
CoVH-229E	4	4	8	1,37
Total	326	257	583	100

Fuente: Registro del LNR para virus respiratorios del IPK

Leyenda: * Incluidas 111 muestras positivas a FAH1pdm09 y 4 FAH3

Los virus detectados con mayor frecuencia en los pacientes con IRAG fueron los virus influenza ($n=183$, 31,83 %) donde se demostró asociación significativa (OR 6,437; 95 % IC: 3,407-12,159; $p=0,000$). Resultados similares se encontraron en un estudio realizado en seis hospitales en Kentucky, donde identificaron a los virus influenza como los principales agentes causantes de neumonía en pacientes hospitalizados en las Unidades de Cuidados Intensivos. ⁽¹⁸⁾ Otro estudio en China, demostró que el virus de influenza A estaba presente en el 42 % (92/219) de las infecciones virales severas. ⁽¹⁹⁾

En Kenya y Guatemala se realizó un estudio entre agosto de 2009 y julio de 2011 en pacientes hospitalizados con IRAG, donde los investigadores encontraron asociación significativa entre los virus influenza y la infección respiratoria severa. ⁽²⁰⁾ En Cuba existen datos publicados sobre el incremento en el índice de hospitalizaciones debidas a las IRAG durante el enfrentamiento de la influenza pandémica 2009. ⁽²¹⁾

De un total de 583 muestras procedentes de pacientes con IRAG positivas a uno de los virus respiratorios identificados, el 50,77 % ($n=296$) perteneció al sexo

femenino con un OR 1,618; 95 % IC: 1,139-2,299; $p=0,007$. En la literatura consultada no se encontraron investigaciones previas con resultados comparables con los obtenidos en el estudio. En este sentido se consideró que podría tratarse de un hallazgo preliminar y que para profundizar sobre esta asociación significativa son necesarios estudios futuros con un número mayor de pacientes.

Se analizaron los grupos de edades de los pacientes con IRAG se demostró que el grupo con mayor riesgo fue el de mayores de 60 años con un OR 12,180; 95 % IC: 2,958-50,49, sin embargo, no se encontró asociación significativa con ninguno de los agentes virales identificados.

Es conocido que los adultos mayores constituyen uno de los principales grupos vulnerables para el desarrollo de las IRA complicadas que requieren hospitalización. En los pacientes <1 año con IRAG se encontró asociación significativa con la detección del VSRH ($p=0,000$), en los de uno a cuatro años con el MPVH ($p=0,022$) y el BoVH ($p=0,001$), en los de cinco a 14 con los RV ($p=0,000$) y en la población de 15-59 años con los virus influenza ($p=0,000$) (tabla 5).

Tabla 5. Distribución de los virus respiratorios según los grupos de edades en las muestras de pacientes con IRAG

	<1 AÑO	1 y 4 AÑOS	5 y 14 AÑOS	15 y 59 AÑOS	≥60 AÑOS	Total
RV	41	54	37*	25	13	170
VPIH	22	22	5	9	11	69
VSRH	38*	24	1	-	6	69
MPVH	3	10*	2	-	3	18
FLU	22	37	21	73*	30	183
EV	6	9	2	4	4	25
BoVH	5	17*	4	-	2	28
AdVH	3	5	-	2	3	13
CoVH-229E	1	3	1	-	3	8
Total	141	81	73	113	75	583

Fuente: Registro del LNR para virus respiratorios del IPK

Leyenda: * $p \leq 0,05$

Los síntomas clínicos respiratorios que más se presentaron en los pacientes con IRAG fueron: fiebre, tos, disnea, expectoración, rinorrea y amigdalitis. Al analizar estos datos, pudimos demostrar asociación significativa entre la IRAG y la presencia de fiebre ($p=0,000$).

En un grupo de pacientes hospitalizados con IRAG en Chicago, se detectó que los síntomas clínicos más frecuentes fueron la fiebre, la tos y la disnea, de manera esencial en aquellos a los que se les diagnosticó infección por el virus de influenza A. ⁽²²⁾ En relación a este resultado se resaltó que la IRAG es una definición de caso elaborada por un grupo de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), con el objetivo de priorizar la vigilancia de Influenza en aquellas personas con enfermedad respiratoria severa, que necesitan hospitalización para un tratamiento específico. Cuando los datos del número de hospitalizaciones por IRAG, se combinan con un resultado confirmatorio del laboratorio, esta vigilancia contribuye a conocer la carga de la enfermedad por los virus influenza, así como completar el conocimiento sobre el espectro clínico de la Influenza, profundizar en su epidemiología y detectar de manera oportuna cambios de sus características clínicas y epidemiológicas.

Se tuvo en cuenta lo expuesto con anterioridad, no son sorprendentes los resultados sobre la detección de los virus influenza como principales agentes causantes de IRAG y con la fiebre como signo clínico más significativo. Se demuestra el beneficio de esta definición de caso para ser utilizada por los programas de vigilancia de influenza de los Ministerios de Salud.

Patrón de circulación de los virus influenza asociados a muestras recibidas de pacientes con IRAG durante el período de estudio

En el estudio, la circulación de los virus influenza se detectó durante todo el año. El virus influenza B circuló entre los meses de mayo a septiembre de año 2012, con un pico máximo de incidencia en el mes de julio. Durante el 2013, el virus influenza A (H1N1) pdm09 predominó en la circulación y se detectó un incremento de la positividad entre los meses de abril a junio. Ambos agentes cocircularon durante el período de estudio. El virus influenza A (H3N2) se detectó de forma regular (fig. 1).

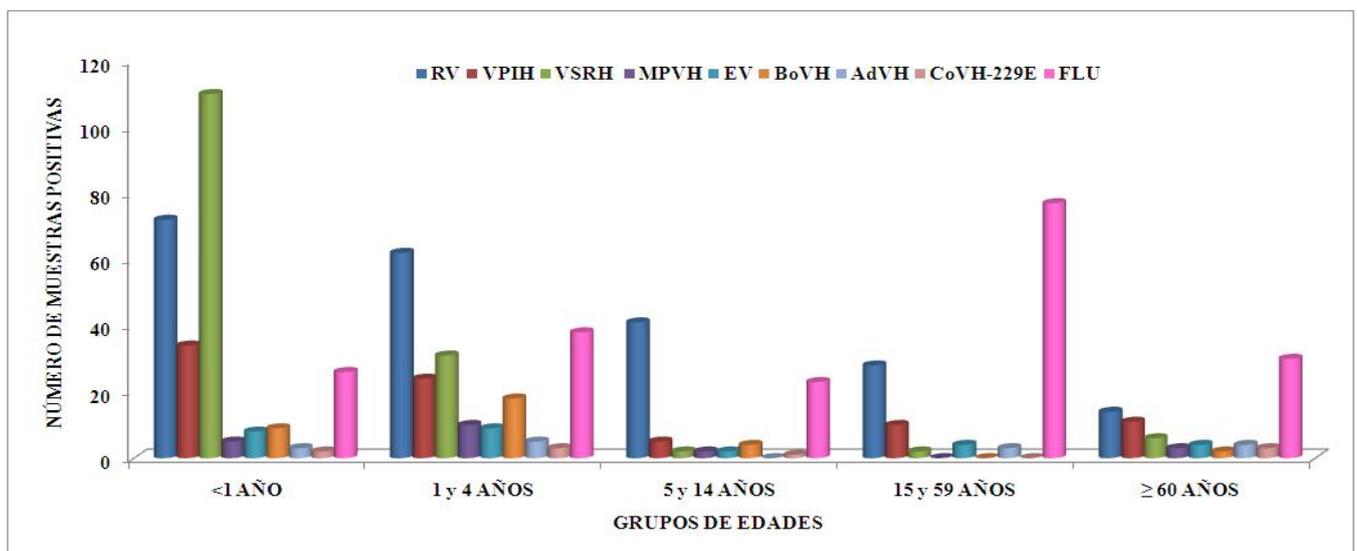


Fig.1 Distribución de patógenos virales identificados en todos los grupos de edades

Es conocido que cada año los virus influenza circulan en todo el mundo, los que ocasiona brotes y epidemias que pueden experimentar variaciones estacionales asociadas a variables climatológicas. Los virus influenza A predominan en la mayoría de las estaciones, al ocasionar altas tasas de hospitalización, aunque están diagnosticadas epidemias por virus influenza B.

Los períodos de incremento en la circulación de los virus influenza detectados en el estudio, coinciden con los meses de la estación lluviosa en el país, lo que no difiere de lo descrito para los países tropicales y subtropicales. ⁽²³⁾

Como se puede observar, ambos picos de incrementos de la positividad a los virus influenza se asociaron con aumentos en la recepción de muestras de pacientes con IRAG. Entre los meses de septiembre y diciembre de año 2012, el aumento en la recepción de muestras de pacientes con IRAG estuvo asociado a la circulación predominante del VSRH, que causó un elevado número de ingresos en especial en niños menores de dos años (datos no mostrados) (Fig. 2).

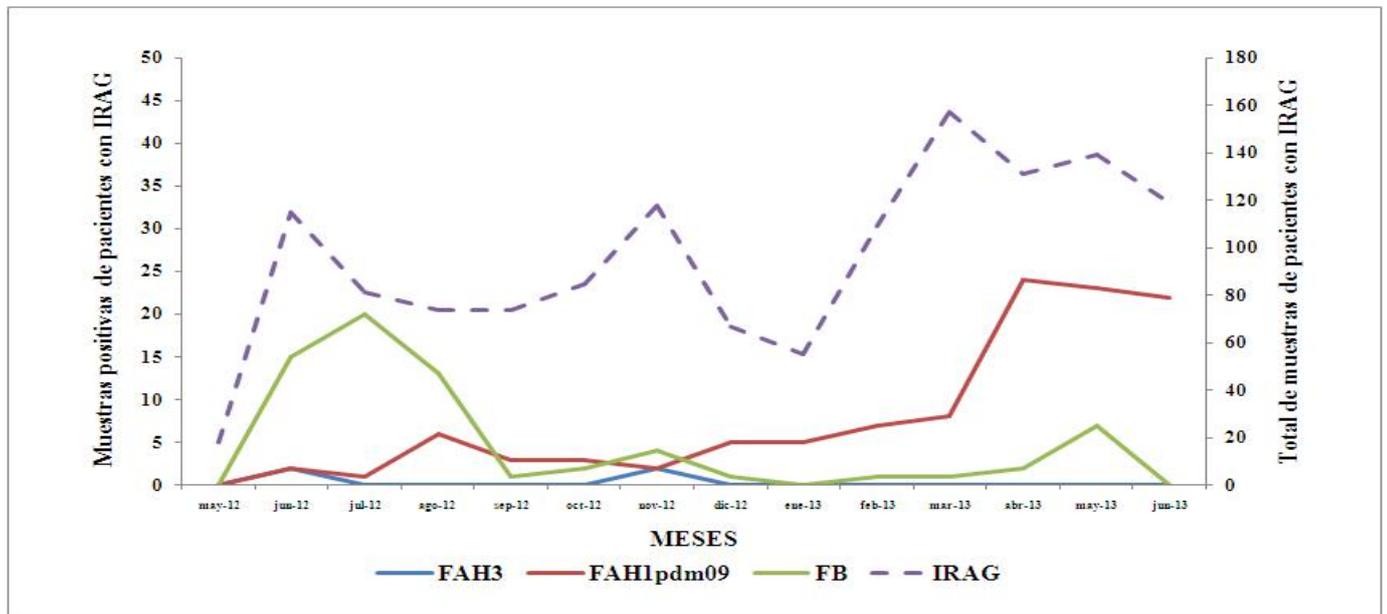


Fig.2 Circulación de los virus influenza asociados a IRAG en el período estudiado

Con relación a este resultado, es importante mencionar que una limitación del estudio está dada por el hecho de que no se asoció los datos de la positividad a los virus influenza con la información sobre el número de hospitalizaciones por IRAG, lo que permitió arribar a conclusiones preliminares sobre la carga de enfermedad por Influenza. No obstante, se debe señalar que en la actualidad en las estadísticas semanales de salud se recoge el dato de los ingresos por IRAG en las UCI y no el total de los hospitalizados, por lo que estaría ausente el número de pacientes con IRAG que pudiesen estar ingresados en otro servicio.

En los países de clima templado durante el período 2012-2013, se detectó un incremento de la actividad de los virus influenza A y B. En Europa, la circulación de A (H1N1) pdm09 fue mayor que la de A (H3N2), sin embargo, en los Estados Unidos y Canadá predominó el virus A (H3N2).⁽²⁴⁾ En la región del Caribe y América Central predominó la circulación del virus influenza A (H1N1) pdm09.⁽²⁵⁾ Los resultados presentados permiten esclarecer la contribución específica de los diferentes virus respiratorios en la causa de las IATRI. En el contexto actual del Programa Regional y Mundial de vigilancia de la Influenza, se aporta información valiosa para el país y la región al evidenciar la carga de los virus influenza en la vigilancia de las IRAG. Al mismo tiempo demuestra la necesidad del esfuerzo de los países por sostener la vacunación anual anti-influenza como principal medida de prevención y control.

Discusión

En el estudio la detección de los RV como el patógeno predominante coincide con resultados obtenidos por diferentes investigadores. Arden KE et al.⁽²⁶⁾ en Australia encontraron a este agente en el 37,8 % de los pacientes con diagnóstico de IATRI. Otro estudio realizado en Holanda, por un grupo de investigadores, encontraron a los RV como el agente más común en los pacientes hospitalizados.⁽²⁷⁾

La detección de los RV en Cuba se reportó por primera vez por Savón C et al.⁽²⁸⁾ Aunque el estudio se realizó con un número limitado de muestras, este virus se identificó en el 11 % de los niños menores de un año de edad con cuadros de bronquiolitis. A estos resultados se suman los encontrados en la investigación, donde el RV fue el agente que se diagnosticó con una elevada frecuencia en todos los grupos de edades, con diferentes tipos de IATRI. Estos resultados apoyan el papel patogénico de este virus en la causa de las IATRI.

A pesar de que en Cuba no existen estudios sobre la carga de la infección por el VSRH en la población pediátrica, investigaciones previas llevadas a cabo por los LNR para los virus influenza y otros virus respiratorios del IPK, evidenciaron la circulación de ambos subgrupos antigénicos del VSRH asociados a altos índices de morbilidad y una relación filogenética estrecha con cepas de este virus circulante a nivel mundial. ^(29,30)

En la literatura existen reportes de que los virus influenza y el VSRH son causantes de neumonía en los pacientes mayores de 60 años, sin embargo, en el estudio no se demostró. Suzuki A et al. ⁽³¹⁾ encontraron que los virus más frecuentes fueron los RV (30,5 % [250/819]), seguido del VSRH (24,1 % [198/819]) en niños hospitalizados con neumonía severa.

En Alemania, un grupo de investigadores detectaron que el MPVH fue el virus de mayor prevalencia en niños de entre 0 y cuatro años hospitalizados. ^(31,32) En un estudio de vigilancia de los virus influenza en Ruanda, se asoció a estos con el 10,4 % (101/971) de los casos de IRAG en pacientes entre 14 y 49 años de edad. ⁽³³⁾ En Bangladesh en el 2010, la incidencia de IRAG en niños menores de cinco años se asoció con el VSRH y el VPIH-3. ⁽³⁴⁾ Como se puede apreciar, estos resultados son coincidentes con los del trabajo a pesar de que solo van dirigidos a un grupo de edad determinada, a diferencia del nuestro que abarca a todos los grupos de edades.

En la literatura médica se describe que la fiebre es el signo clínico más común en la infección por los virus influenza. El mismo está presente en más del 90 % de los casos, aunque otros como la tos no productiva (>80 %), congestión nasal o rinitis (>80 %), cefalea, amigdalitis no exudativa y otros síntomas generales también están presentes. ⁽³⁵⁾

Conclusiones

Los rinovirus fueron los agentes identificados con mayor frecuencia, seguidos de los virus influenza y del virus sincitial respiratorio humano, se demostró el papel patogénico de estos agentes en los pacientes con diagnóstico de infección aguda del tracto respiratorio inferior. La asociación significativa de la positividad a los virus influenza con los diagnósticos clínicos de neumonía y bronconeumonía durante el período de estudio confirma a estos agentes como los principales a tomar en cuenta en la causa de la infección respiratoria aguda grave.

Los patógenos virales involucrados en la causa de la infección respiratoria aguda grave varían en dependencia del grupo de edad, lo que evidencia la necesidad de disponer en los protocolos de actuación en las instituciones de salud de medidas específicas de manejo de casos. El hallazgo significativo de la fiebre en los pacientes con infección respiratoria aguda grave, apoya su utilidad como signo mayor de la definición sugerida por la Organización Mundial de la Salud, para ser empleada por los programas de vigilancia de los virus influenza.

Durante el período estudiado, los virus influenza circularon en Cuba a través de todo el año con dos picos de incremento en la positividad, asociados a los virus influenza B y virus influenza A (H1N1) pdm09, al ocasionar aumentos en la recepción de muestras de pacientes con infección respiratoria aguda grave. Los resultados de esta investigación alertan a los programas nacionales la necesidad de centralizar los esfuerzos de la vigilancia en los pacientes con infección respiratoria aguda grave para la identificación oportuna de eventos de salud inusitados por los virus influenza.

Referencias bibliográficas

1.OPS. Guía Operativa para la Vigilancia Nacional intensificada de Infección Respiratoria Aguda Grave (IRAG). Proyecto de prevención y control de enfermedades transmisibles [Internet]. Washington: OPS; Jul 2011 [citado 12 Jul

2018]. Disponible en: <https://www.paho.org/revelac.../2015-cha-guia-operativa-vigilancia-centinela-irag.pdf>

2.Tregoning JS, Schwarze J. Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin microbiol rev.* 2010 Jan;23(1):74-98.

3.Kwofie TB, Anane YA, Nkrumah B, Annan A, Nguah SB, Owusu M. Respiratory viruses in children hospitalized for acute lower respiratory tract infection in Ghana. *Virol j.* 2012;9:78.

4.MINSAP. Anuario Estadístico de Salud. Dirección de registros médicos y estadísticas de Cuba 2016 [Internet]. La Habana: OPS; 2017 [citado 12 Jul 2018]. Disponible en:

[files.sld.cu/dne/files/2017/05/Anuario Estadístico de Salud e 2016 edición 2017.pdf](files.sld.cu/dne/files/2017/05/Anuario_Statistico_de_Salud_e_2016_edici3n_2017.pdf)

5.Singh AK, Jain A, Jain B, Singh KP, Dangi T, Mohan M, et al. Viral aetiology of acute lower respiratory tract illness in hospitalised paediatric patients of a tertiary hospital: One year prospective study. *Indian j med microbiol.* 2014 Jan-Mar;32(1):13-8.

6.Wiemken T, Peyrani P, Bryant K, Kelley RR, Summersgill J, Arnold F, et al. Incidence of respiratory viruses in patients with community-acquired pneumonia admitted to the intensive care unit: results from the Severe Influenza Pneumonia Surveillance (SIPS) project. *Eur j clin microbiol infect dis.* 2013 May;32(5):705-10.

7.Acosta Herrera B. Virus respiratorios emergentes en Cuba en el período 2005-2010 [tesis doctoral]. La Habana:Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí; 2012 [citado 12 Jun 2017]. Disponible en: <http://tesis.sld.cu/index.php?P=FullRecord&ID=260>

8.Kowk S, Higushi R. Avoiding false positives with PCR. *Nature.* 1989;339:237-8.

9.Ruiz-Carrascoso G, Casas I, Pozo F, Perez-Gonzalez C, Reina J, Perez-Brena P. Development and implementation of influenza A virus subtyping and detection of

genotypic resistance to neuraminidase inhibitors. *J med Virol.* 2010;82(5):843-53.

10.WHO. CDC protocol of real-time RT-RCP for Influenza A (H1N1) [Internet]. Atlanta:WHO; Apr 2009 [citado 12 Jun 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimertpcr/en/>.

11.Li H, Wei Q, Tan A, Wang L. Epidemiological analysis of respiratory viral etiology for influenza-like illness during 2010 in Zhuhai, China. *Virol j.* 2013;10:143.

12.Lina B, Valette M, Foray S, Luciani J, Stagnara J, See DM, et al. Surveillance of community-acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhone-Alpes (France) during winter 1994 to 1995. *J clin microbiol.* 1996 Dec;34(12):3007-11.

13.Goka EA, Vallely PJ, Mutton KJ, Klapper PE. Single, dual and multiple respiratory virus infections and risk of hospitalization and mortality. *Epidemiol infect.* 2015 Jan;143(1):37-47.

14.Black CP. Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection. *Respir Care.* 2003 Mar;48(3):209-33.

15.Dangi T, Jain B, Singh AK, Mohan M, Dwivedi M, Kumar R. Influenza virus genotypes circulating in and around Lucknow, Uttar Pradesh, India, during post pandemic period, August 2010 - September 2012. *Indian j med res.* 2014;139:418-26.

16.Seo YB, Song JY, Choi MJ, Kim IS, Yang TU, Hong K, et al. Etiology and Clinical Outcomes of Acute Respiratory Virus Infection in Hospitalized Adults. *Infect Chemother.* 2014;46(2):67-76.

17.Broulette J, Yu H, Pyenson B, Iwasaki K, Sato R. The Incidence Rate and Economic Burden of Community-Acquired Pneumonia in a Working-Age Population. *Am Health Drug Benefits.* 2013;6(8):494-503.

18.Wiemken T, Peyrani P, Bryant K, Kelley RR, Summersgill J, Arnold F, et al. Incidence of respiratory viruses in patients with community-acquired pneumonia

admitted to the intensive care unit: results from the Severe Influenza Pneumonia Surveillance (SIPS) project. *Eur j clin microbiol infect dis.* 2013 May;32(5):705-10.

19.Liu YF, Gao Y, Chen MF, Cao B, Yang XH, Wei L. Etiological analysis and predictive diagnostic model building of community-acquired pneumonia in adult outpatients in Beijing, China. *BMC infect dis.*2013;13:309.

20.Fuller JA, Summers A, Katz MA, Lindblade KA, Njuguna H, Arvelo W, et al. Estimation of the national disease burden of influenza-associated severe acute respiratory illness in Kenya and Guatemala: a novel methodology. *PloS one.*2013;8(2):e56882.

21.Savon Valdes CE, Acosta Herrera B, Pinon Ramos A, Valdes Ramirez O, Oropesa Fernandez SI, Gonzalez Munoz G, et al. Infección respiratoria aguda grave en pacientes cubanos durante la ola de influenza pandémica A (H1N1) en Cuba, 2009. *Rev cubana med trop.*Ene-Abr 2011;63(1):30-7.

22.Walker E, Ison MG. Respiratory viral infections among hospitalized adults: experience of a single tertiary healthcare hospital. *Influenza Other Respir Viruses.*2014 Feb 3;8(3):282-292.

23.Schlaudecker EP, Heck JP, Macintyre ET, Martinez R, Dodd CN, McNeal MM, et al. Etiology and seasonality of viral respiratory infections in rural Honduran children. *Pediatr infect dis j.*2012 Nov; 31(11):1113-8.

24.Samaan G. Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) [Internet]. Londres: WHO; 2011[citado 12 Jun 2017]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/presentation/33f2/a2cebe045069de375db9d76bc6e98797b4aa.pdf>

25.OPS. Actualización Epidemiológica. Incremento de la actividad de influenza[Internet]. Washington:OPS;2013 [citado 12 Jun 2017]. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=21763 &Itemid

- 26.Arden KE, McErlean P, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM. Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. *J med virol.* 2006 Sep;78(9):1232-40.
- 27.Van Gageldonk-Lafeber AB, Heijnen ML, Bartelds AI, Peters MF, van der Plas SM, Wilbrink B. A case-control study of acute respiratory tract infection in general practice patients in The Netherlands. *Clin Infect Dis.* 2005 Aug 15;41(4):490-7.
- 28.Savón Valdés C, Valdés Ramírez O, Acosta Herrera B, González Muñoz G, Piñón Ramos A, González Baez G. Infección por rinovirus en niños hospitalizados menores de 1 año. *Rev Biomed.* 2008;19:122-3.
- 29.Valdés Ramírez O, Savon Valdés C, Goyenechea Hernández A, Valdivia A, Gonzalez Muñoz G, Palerm Caraballo L. Diferentes patrones de circulación dentro de los subgrupos A y B del virus sincitial respiratorio humano en algunas provincias de Cuba. *Rev cubana med trop.* 2004;56(2):94-102.
- 30.Savon Valdés C, Goyenechea Hernández A, Valdes Ramírez O, Aguilar J, Gonzalez Muñoz G, Palerm L. Respiratory syncytial virus group A and B genotypes and disease severity among Cuban children. *Arch med res.* 2006;37(4):543-7.
- 31.Suzuki A, Lupisan S, Furuse Y, Fuji N, Saito M, Tamaki R, et al. Respiratory viruses from hospitalized children with severe pneumonia in the Philippines. *BMC infect dis.*2012;12:267.
- 32.Reiche J, Jacobsen S, Neubauer K, Hafemann S, Nitsche A, Milde J, et al. Human metapneumovirus: insights from a ten-year molecular and epidemiological analysis in Germany. *PloS one.* 2014;9(2):e88342.
- 33.Nyatanyi T, Nkunda R, Rukelibuga J, Palekar R, Muhimpundu MA, Kabeja A, et al. Influenza sentinel surveillance in Rwanda, 2008-2010. *J infect dis.*2012 Dec 15;206 Suppl 1:S74-9.
- 34.Nasreen S, Luby SP, Brooks WA, Homaira N, Mamun AA, Bhuiyan MU, et al. Population-Based Incidence of Severe Acute Respiratory Virus Infections among

Children Aged <5 Years in Rural Bangladesh, June-October 2010. PloS one. 2014 Feb 25;9(2):e 89978.

35.Treanor JJ. Influenza viruses, including avian influenza and swine influenza. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7 th ed. Philadelphia: CHURCHILL LIVINGSTONE; 2010. p.2265–88.

Anexos

Anexo 1. Modelo adjunto para la colecta de muestras.

Minsap. Modelo. Microbiología.

Muestras para diagnóstico microbiológico o envío de cepas para el trabajo de referencia nacional en el IPK.

1-Nombre(es)		Primer Apellido:		Segundo Apellido:		2-Carné de Identidad:		No.	
3- Dirección Particular:		4-Municipio:		5-Provincia:		6-Hist. Clínica:			
7-Edad:	8-Sexo: Masc. <input type="checkbox"/> Fem. <input type="checkbox"/>	9-Ocupación		10-Color de la piel: Blanca <input type="checkbox"/> Negra <input type="checkbox"/> Amarilla <input type="checkbox"/> Mestiza <input type="checkbox"/>				11-Días de ingreso	
12-Centro que Remite:		13-Sala	14-Municipio:		15-Provincia:		16-Fecha: Día Mes Año		
17-Diagnóstico Clínico:						18-Fecha de comienzo de los Síntomas:			
19-Síntomas y signos generales:								Día Mes Año	
Fiebre <input type="checkbox"/> Mialgia <input type="checkbox"/> Cefalea <input type="checkbox"/> Linfadenopatía <input type="checkbox"/> Malestar General <input type="checkbox"/> Vómitos <input type="checkbox"/> Rash <input type="checkbox"/> Petequias <input type="checkbox"/>									
Diarreas <input type="checkbox"/> Artralgia <input type="checkbox"/> Esplenomegalia <input type="checkbox"/> Anorexia <input type="checkbox"/> Ictero <input type="checkbox"/> Hepatomegalia <input type="checkbox"/> Astenia <input type="checkbox"/> Escalofríos <input type="checkbox"/>									
Sangramiento <input type="checkbox"/> Dolor abdominal <input type="checkbox"/> Aumento de volumen de parótida <input type="checkbox"/>									
IRA: Tos <input type="checkbox"/> Disnea <input type="checkbox"/> Expectoración <input type="checkbox"/> Laringitis <input type="checkbox"/> Faringitis <input type="checkbox"/> Rinorrea <input type="checkbox"/> Otitis <input type="checkbox"/> Coqueluche <input type="checkbox"/>									
Amigdalitis <input type="checkbox"/> Laringotraqueobronquitis <input type="checkbox"/> Estornudos <input type="checkbox"/> Vacunación anti-Influenza <input type="checkbox"/>									
SNC: Desorientación <input type="checkbox"/> Rigidez nuca <input type="checkbox"/> Convulsiones <input type="checkbox"/> Pérdida de conciencia <input type="checkbox"/> Trastornos de conducta <input type="checkbox"/>									
Dificultad en la marcha <input type="checkbox"/>									
ITS: Secreción Genital <input type="checkbox"/> Lesión Genital <input type="checkbox"/> SEPSIS URINARIA: Disuria <input type="checkbox"/> Otros:									

<p>20-Diagnóstico Clínico:</p> <hr/> <p>22-Tipo de Muestra colectada:</p> <p>Suero <input type="checkbox"/> Sangre <input type="checkbox"/> LCR <input type="checkbox"/> Humor acuoso <input type="checkbox"/></p> <p>Orina <input type="checkbox"/> Líquido amniótico <input type="checkbox"/> Gargarismo <input type="checkbox"/> Espudo <input type="checkbox"/></p> <p>Heces <input type="checkbox"/> Exudado <input type="checkbox"/> Cual _____</p> <p>Tejido <input type="checkbox"/> Cual _____</p> <p>**Lámina de: _____ Cepa de: _____</p> <p>Fecha colecta muestra: _____ Día Mes Año</p>	<p>21-APP:</p> <hr/> <p>Enfermedad similar en la familia o comunidad: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/></p> <p>Historia de viajes al exterior: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> País: _____</p> <p>Fecha llegada al país: _____ Día Mes Año</p> <p>Tratamiento Previo: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/></p> <p>Cuál(es): _____</p> <hr/> <p>Antecedente de vacunación PRS</p> <p>SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Fecha: _____ Día Mes Año</p>
<p>22-Estudio solicitado:</p> <p>Diagnóstico <input type="checkbox"/> Referencia <input type="checkbox"/></p>	<p>24- Nombre del Facultativo:</p>
<p>23-SUEROS PAREADOS</p> <p>Fecha de colecta:</p> <p>1^{er} Suero _____ 2^{do} Suero _____ Día Mes Año Día Mes Año</p> <p>Confirmatorio (Dengue) <input type="checkbox"/> Referencia <input type="checkbox"/></p> <p>Para el envío de cepas solo se requieren los datos correspondientes a los acápites: 1, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 22, 24, 25.</p>	<p>25- RESULTADOS</p>

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.