Detección de antígenos virales en lactantes con infección respiratoria aguda baja

M. Lina Boza C.¹; Waldo Castillo M.¹; Luisa Cancino D.²;
Miriam Muñoz O.²; Gregorio Aguilera A.³

Viral antigens in nasopharyngeal exudates from infants with acute lower respiratory tract infections

To measure the frequency and distribution of positive identification of viral antigens by indirect immunofluorescence (IF) in patients aged 24 months or less with lower respiratory tract infections. IF reactions for respiratory syncytial virus (RSV), adenovirus (ADV), parainfluenza 1, 2 and 3 virus (PIV), influenza a and b (IVa and IVb) were carried on nasopharyngeal secretions from 660 children admitted before 24 months of age to the pediatric wards of a metropolitan general hospital at Santiago, Chile, because of clinical and radiological evidence of severe lower respiratory tract infection (pneumonia, pneumonitis, bronchiolitis, apnea plus lung infiltrates). Positive IF were obtained from 322 cases (48.8%). Most frequently identified antigens were those of RSV (56.2%) y ADV (26.7%). Lethality among patients with positive IF was 9.9% and 6.2% in those with negative IF (p : NS), but in 24 of 32 (75%) positive IF patients that died, ADV was the isolated antigen, the risk of death being in these cases significantly higher than in patients with other antigens or negative IF (Z crit -1.65 vs. Z calc -1.178). Apnea was the main clinical symptom in 46 patients, all under 3 months of age, 19 of them had positive IF reactions that with only one exception corresponded to RSV.

(Key words: lower respiratory infections, pneumonia, pneumonitis, bronchiolitis, apnea, viral antigens, immunofluorescence, adenovirus, respiratory syncytial virus.)

Las infecciones virales del árbol respiratorio pueden ser asintomáticas o causar molestias que varían de mínimas a severas, pudiendo amenazar la vida o producir secuelas como bronquiolitis obliterante¹, bronquiectasias², pulmón hiperlúcido^{3,4}, e hiperreactividad bronquial recurrente⁵⁻⁷, todas las cuales pueden, a su vez, causar hipertensión pulmonar y corazón pulmonar crónico.

Aun cuando los exámenes microbiológicos corrientes tienen bajo rendimiento en la detección de bacterias causantes de infecciones respiratorias agudas bajas (IRAB) en lactantes, la evidencia sugiere que, en países desarrollados y

el nuestro, la mayoría de ellas es causada por virus. La identificación de agentes virales mediante estudios serológicos y cultivos tiene, en los casos aludidos, inconvenientes de coste y tardanza en la obtención de resultados, que los hacen poco prácticos para propósitos clínicos. Por otra parte, la pesquisa de antígenos virales en secreciones respiratorias, si bien no establece necesariamente relaciones de causalidad, ofrece información valiosa en la presunción etiológica, para orientar el tratamiento en los primeros días después del ingreso, especialmente cuando los demás elementos de juicio no sugieren otros tipos de agentes infecciosos^{8,9}. En nuestro hospital no se disponía de datos suficientes sobre la prevalencia y distribución de dichos antígenos virales en niños menores de 2 años con IRAB, por lo que en 1988 se inició una investigación operativa, cuyos resultados se exponen a continuación, con el propósito de describir la frecuencia con que algunos de ellos se detectan, mediante inmunofluorescencia indirecta (IF), en ese tipo de pacientes.

1. Servicio de Pediatría, Unidades de Broncopulmonares e Ingreso, Hospital San Borja Arriarán, SSMC y Departamento de Pediatría, Campus Centro, Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.
2. Kinesiólogos, Servicio de Medicina Física y Rehabilitación, Hospital San Borja Arriarán.
3. Tecnólogo Médico, Unidad de Inmunología, Laboratorio Central, Hospital San Borja Arriarán.

Pacientes y Métodos

Durante los meses de abril a septiembre de los años 1988, 1989 y 1990, con la única limitante de la disponibilidad de reactivos para detección de antígenos virales por inmunofluorescencia, se estudió la mayor cantidad posible de niños de 0 a 24 meses de edad ingresados al Hospital San (Francisco de) Borja (Manuel) Arriarán de Santiago (HSBA) por IRAB grave, definida como una enfermedad inflamatoria, febril, de la vía respiratoria—desde la laringe a los alvéolos pulmonares—acompañada o no de síndrome bronquial obstructivo, con evidencia radiológica de compromiso del intersticio o el parénquima pulmonares o ambos, con o sin signos clínicos o radiológicos de hiperinsuflación pulmonar. La enfermedad se consideró grave si el paciente cumplía al menos con tres de los siguientes criterios: temperatura mantenida sobre 38,5°C rectal; puntuación de Tal¹⁰ igual o mayor que 8; signos radiológicos de hiperinsuflación o compromiso intersticial difuso, con o sin signos de relleno alveolar o atelectasia, en la radiografía de tórax; hipoxemia arterial con o sin hipercapnea; episodios de apnea con bradicardia, de 20 o más segundos de duración. Sólo se incluyeron pacientes previamente sanos, cuya enfermedad actual tuviese una duración inferior a 5 días. A todos ellos se les tomaron muestras de aspirado nasofaríngeo, para reacciones de inmunofluorescencia a antígenos de virus sincicial respiratorio (VSR), adenovirus (ADV), virus parainfluenza 1, 2 y 3 (VPI), virus influenza a y b (VIA y VIB). Las muestras fueron obtenidas por los kinesiólogos participantes, a más tardar al séptimo día de evolución con la técnica descrita por Méndez¹¹. Los frotis fueron procesados en el laboratorio del HSBA y leídos en el Instituto de Salud Pública de Chile, en el año 1988; posteriormente todo el procedimiento se realizó en el HSBA.

Los pacientes recibieron oxígeno según sus necesidades y, en caso de síndrome bronquial obstructivo, salbutamol o fenoterol en nebulizaciones o aerosol, con o sin bromuro de ipratropio. Los esteroides se emplearon sólo en casos de síndrome obstructivo severo o progresivo. Los antibióticos se usaron en los

enfermos con IF negativa que, además, tuviesen en la sangre proteína C reactiva ≥ 40 mg/dl, velocidad de sedimentación globular ≥ 40 mm/h o más de 15 000 leucocitos por mm³, por separado o en asociación, y en paciente con IF positiva con manifestaciones clínicas y radiológicas de agravamiento de su evolución y aparición posterior de los índices recién descritos.

De esta manera se estudiaron 660 muestras de igual número de pacientes, se analizó la frecuencia absoluta y relativa de las identificaciones positivas y se hicieron comparaciones de edad, síndrome clínico y letalidad entre lactantes afectados por IRAB con reacciones de IF positivas y negativas. Para el análisis estadístico de los resultados se empleó la prueba t de Student, asignando significación a valores de $p \leq 0.05$.

Resultados

En 322 (48,8%) pacientes se obtuvieron resultados positivos con IF, 188 (58,4%) eran varones. Entre los niños con IF negativa, 202 (59,7%) eran de sexo masculino. La edad entre pacientes con IF positivas y negativas fue, respectivamente: < 6 meses en 202 (62,7%) vs. 221 (65,3%); 6 a 12 meses en 78 (24,2%) vs. 81 (24,05%) y > 12 meses en 42 (13,1%) y 36 (10,7%), sin diferencias significativas. Las manifestaciones clínicas de la IRAB se agruparon, de acuerdo con las definiciones del método, en síndrome bronquial obstructivo (SBO), bronconeumonía (BN), combinaciones de SBO con BN, y apnea, predominando claramente la combinación aludida sobre las restantes. Cabe destacar que los casos de apnea sólo ocurrieron en niños de 3 meses o menos de edad (tabla 1).

Los antígenos virales detectados con mayor frecuencia fueron, en orden decreciente: los de

Tabla 1

Distribución por edad de 660 lactantes con infecciones respiratorias agudas bajas e inmunofluorescencia positiva (n: 322) o negativa (n: 338) para antígenos virales, según edad y diagnóstico clínico

	SBO con BN				SBO				BN				Apnea			
	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+	IF+
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 6 meses	99	(30,7)	119	(30,7)	57	(17,5)	38	(11,9)	36	(11,1)	43	(12,2)	19	(5,9)	27	(8,0)
6-12 meses	38	(11,9)	23	(6,7)	25	(7,6)	30	(8,8)	27	(8,5)	27	(8,0)	—	—	—	—
> 12 meses	4	(1,2)	7	(2,0)	10	(3,0)	12	(3,7)	7	(2,2)	12	(3,7)	—	—	—	—

BN: Neumonía, bronconeumonía o imágenes de condensación alveolar.

SBO: Síndrome bronquial obstructivo, clínico, radiológico o ambos.

VSR (56,2%) y ADV (26,7%). En 32 casos, 10%, hubo detecciones mixtas, siendo las asociaciones más frecuentes las de VSR con ADV (n: 14), Vlb (n: 12) y VPI (n: 4), con un caso cada una de VSR con Vla y ADV con Vlb (tabla 2). Entre los 19 casos de lactantes menores con apnea e IF positiva los resultados de ésta demostraron casi siempre (95%), con una sola excepción, antígeno de VRS.

De los 660 pacientes incluidos en el estudio, 53 fallecieron (8,0%); 32 tenían IF positiva y representan a 9,9% de este grupo de 322 enfermos. La letalidad entre los 338 niños con IF negativa fue de 6,2% (p NS). Entre los 32 niños con IF positiva que murieron, en 24 (75%) se identificaron antígenos para ADV (incluido un aislamiento mixto con Vlb), 5 tenían menos de 3 meses, 7 de 3 a 6 meses y 12 más de 6 meses de edad. En 8 (25%) se había aislado antígenos de VSR (incluida una identificación mixta con Vla), 4 de ellos tenían menos de 3 meses, 2 de 3 a 6 meses y 2 más de 6 meses de edad. La probabilidad de morir entre los pacientes de cualquier edad con antígenos ADV fue significativamente mayor al nivel establecido (Z crítico -1,65 vs. Z calculado -1,178).

Discusión

Este trabajo resume la experiencia de tres años con la prevalencia de los antígenos virales elegidos, en una muestra de lactantes con infecciones respiratorias agudas bajas, seleccionados por su gravedad y por un tiempo de evolución inferior a 1 semana. La mayor frecuencia de identificación de VSR en los pacientes que ingresan, como en los que presuntamente se infectan en el hospital, ha sido descrita previa-

mente^{12, 13} y es coincidente con nuestros resultados, en los que el ADV ocupó el segundo lugar, con una frecuencia mayor que en otras series chilenas¹³⁻¹⁶, pero dentro del margen superior de las proporciones detectadas en otros países, que es de 4 a 28%^{14, 15, 17}, lo que en parte podría deberse a la selección de pacientes más graves y, tal vez, a una incidencia real más elevada de las infecciones por este agente, cuya demostración excede las posibilidades metodológicas de este estudio.

La distribución de los antígenos virales identificados fue similar en ambos sexos. El ligero predominio de varones en la muestra, si bien no es estrictamente significativo, podría reflejar mayor incidencia de IRAB grave en este sexo. La aparentemente mayor susceptibilidad de los menores de 6 meses es posiblemente real y también derivada de la mayor frecuencia de pacientes más graves entre ellos, lo que es un hecho conocido⁹, relacionado con la falta de protección inmunitaria y las características anatomofuncionales del pulmón a su edad. La mayor letalidad asociada a IF positiva por adenovirus ha sido también reconocida previamente¹⁷. No estamos en condiciones de descartar la posibilidad que, entre nuestros pacientes, pudiese haber ocurrido un serotipo de ADV particularmente agresivo, que no fue posible identificar por limitación de recursos. La asociación de infecciones por VSR y apnea en menores de 3 meses merece ser destacada. La causa de la apnea no se conoce bien, aunque algunas hipótesis la relacionan con diferencias de respuesta al arco reflejo de la vía aérea superior, como consecuencia de la cual los estímulos locales producirían apnea obstructiva o mixta en lugar de tos¹⁸.

Resumen

Con el propósito de medir la frecuencia con que se aíslan determinados antígenos virales, en niños con infecciones respiratorias agudas bajas graves (IRAB), se realizaron ensayos de inmunofluorescencia (IF) para antígenos de virus sincicial respiratorio (VSR), adenovirus (ADV), virus parainfluenza 1, 2 y 3 (VPI), virus influenza a y b (Vla y Vlb) en las secreciones nasofaríngeas de 660 niños menores de 24 meses que cumplían con criterios clínicos y radiológicos de IRAB grave comúnmente aceptados. En 322 casos (48,8%) se obtuvieron resultados positi-

Tabla 2

Frecuencia relativa de los antígenos virales detectados por inmunofluorescencia indirecta en 322 de 660 lactantes con infecciones respiratorias agudas bajas

	n	%
Virus sincicial resp.	181	56,2
Adenovirus	86	26,7
Virus parainfluenza	14	4,3
Virus influenza b	9	2,8
Asociación de virus*	32	10,0

* Ver distribución en el texto.

vos. Los antígenos más frecuentemente identificados fueron los de VSR (56,2%) y ADV (26,7%). La letalidad en niños con IRAB e IF positiva fue 9,9% y 6,2% en aquellos con IF negativa (p NS). En 24 de 32 (75%) pacientes fallecidos con IF positivas, el antígeno identificado correspondía a ADV, siendo el riesgo de morir en estos casos significativamente mayor que en el de pacientes portadores de otros antígenos o ninguno (Z crítico -1,65 vs. Z calculado -1,178). La apnea fue la principal manifestación clínica en 46 pacientes, todos menores de 3 meses y 19 con reacciones de inmunofluorescencia positivas que, con una sola excepción, correspondían a antígenos de VSR.

(Palabras claves: Infección respiratoria baja, bronconeumonía, neumonía, neumonitis, bronquiolitis, apnea, antígenos virales, inmunofluorescencia, adenovirus, virus sincicial respiratorio.)

Referencias

- Hardy K, Schidlow D, Zaeri N: Obliterative Bronchiolitis in children. *Chest* 1983; 3: 460-466.
- Simila S, Lanning P: Chronic lung damage caused by adenovirus type 7: A ten year follow up study. *Chest* 1981; 80: 127-131.
- Daniel T, Woodring J, Mac Vandeviere H, Wilson D: Sawyer James syndrome. Unilateral hyperlucent lung. *Clin Pediatr (Phila)* 1984; 23: 393-397.
- Wu E, Flores M, Jerez E: Pulmón hiperlúcido unilateral por adenovirus. *Rev Chil Pediatr* 1990; 61: 41-44.
- Mallory G, Motoyama E, Koumbourlis A, Mutich R, Nakayama D: Bronchial reactivity in infants in acute respiratory failure with viral bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol* 1989; 6: 253-259.
- Duiverman E, Neijend H, Van Strik R, Affourtit M, Herrenbijn K: Lung function and bronchial responsiveness in children who had infantile bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol* 1987; 3: 38-44.
- Haltan M, Keens T, Lapierre JG, Levison H: Pulmonary function abnormalities in symptom free children after bronchiolitis. *Pediatrics* 1977; 59: 683-688.
- Méndez B, Goldenberg E, Vicente M, Díaz A, Fariás P: Infecciones respiratorias agudas bajas por virus sincicial respiratorio. Diagnóstico rápido por técnica de inmunofluorescencia. *Rev Chil Pediatr* 1987; 30: 235-240.
- Ceruti E, Díaz A, Vicente M, Escobar AM, Martínez F, Pinto R: Etiología de las infecciones respiratorias bajas agudas en lactantes hospitalizados. *Rev Chil Pediatr* 1991; 62: 155-166.
- Tal A, Bavilski C, Yohai D, Bearman JE, Gordischer R, Moses SW: Dexamethasone and salbutamol in the treatment of acute wheezing in infants. *Pediatrics* 1983; 71: 13-18.
- Brandt D, Hyun WK, Ariobio J, Jeffnes B, Wood SC, Chanock R: Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington D.C. *Am J Epidemiol* 1973; 98: 355-365.
- Burdach R, Vicente M, Carrasco L, Sepúlveda H, Aguilera G, González Q: Etiología viral en afecciones broncopulmonares agudas y recidivantes de la infancia. *Revista Chilena de Infectología* 1987; 4: 104-109.
- Van der Veen J: The role of adenovirus in respiratory disease. *Am Rev Resp Dis* 1963; 88: 167-180.
- Edwards KM, Thomson J, Paolini J: Adenovirus infections in young children. *Pediatrics* 1985; 76: 420-424.
- Almaraz MI, Wu E, Vicente M, Torres G, Garay B, Alvarez AM: Infecciones respiratorias agudas intrahospitalarias. *Rev Chil Pediatr* 1990; 61: 185-188.
- Wade UG: Adenoviruses. Principles and Practice on Clinical Virology. Ed Zuckerman AJ, Wiley J and Sons Ltd, London 1987.
- Wu E, Martínez V, Alvarez AM, Larrañaga G, Vela H: Casos fatales de infección por adenovirus. *Rev Chil Pediatr* 1990; 61: 177-184.
- Pickens D, Scheffl G, Storch G, Thach B: Characterization of prolonged apneic episodes associated with respiratory syncytial virus infections. *Pediatr Pulmonol* 1989; 6: 195-201.