

## Relevancia de la co-detección de virus respiratorios en la severidad de la infección respiratoria aguda en niños hospitalizados

### Relevance of codetection of respiratory viruses in the severity of acute respiratory infection in hospitalized children

Le Corre Nicole<sup>a</sup>, Pérez Regina<sup>a</sup>, Vizcaya Cecilia<sup>a</sup>, Martínez-Valdebenito Constanza<sup>c</sup>, López Tania<sup>b</sup>, Monge Marcela<sup>b</sup>, Alarcón Romina<sup>c</sup>, Moller Francesca<sup>d</sup>, Martínez María Teresa<sup>d</sup>, José Miguel Massardo<sup>d</sup>, Ferrés Marcela<sup>a-c</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile

<sup>b</sup>Hospital Clínico Pontificia Universidad Católica de Chile. Red de Salud UC-Christus. Santiago, Chile

<sup>c</sup>Laboratorio de Infectología y Virología Molecular, Red de Salud UC-Christus. Santiago, Chile

<sup>d</sup>Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile

Recibido: 13 de febrero de 2020; Aceptado: 16 de noviembre de 2020

#### ¿Qué se sabe del tema que trata este estudio?

El uso de biología molecular ha contribuido significativamente como método diagnóstico virológico, logrando la identificación de más y nuevos virus respiratorios. Sin embargo el impacto e interpretación de la identificación de dos o más virus en niños hospitalizados es controversial.

#### ¿Qué aporta este estudio a lo ya conocido?

En niños hospitalizados por infección respiratoria aguda la co-detección viral es elevada (26%) y se asoció a mayor ingreso a UCI. La estadía hospitalaria fue más prolongada al identificarse rinovirus/enterovirus junto a un segundo virus respiratorio.

#### Resumen

La reacción de polimerasa en cadena (RPC) múltiple permite detectar simultáneamente virus respiratorios, planteando interrogantes sobre la relevancia de cada uno de ellos en el cuadro clínico.

**Objetivo:** Evaluar la contribución de factores clínicos, epidemiológicos y virológicos para interpretar el cuadro clínico de niños hospitalizados por infección respiratoria aguda (IRA) con co-detección viral. **Pacientes y Método:** Se incluyeron los pacientes pediátricos  $\leq 15$  años, hospitalizados por IRA en el Hospital Clínico de la Red de Salud UC-CHRISTUS entre los meses de junio y octubre de 2014, y que presentaron un panel molecular respiratorio positivo. Las muestras respiratorias (hisopado nasofaríngeo, aspirado traqueal o lavado broncoalveolar) con paneles positivos por técnica Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection Seegene®, fueron analizadas con una segunda técnica (xTAG-RVP-

#### Palabras clave:

Enfermedad Viral;  
Co-Detección;  
Infecciones de Vías Respiratorias;  
Niños Hospitalizados;  
Reacción Polimerasa en Cadena Múltiple

Correspondencia:

Nicole Le Corre  
mlecorre@med.puc.cl

Marcela Ferrés  
mferras@med.puc.cl

Cómo citar este artículo: Andes pediater. 2021;92(3):349-358. DOI: 10.32641/andespediatr.v92i3.1756

FASTv2 Luminex®, USA), la cual permite la detección simultánea y semi-cuantitativa de 17 virus respiratorios. Se recolectaron antecedentes clínicos y epidemiológicos. **Resultados:** Se identificó un virus en 42/57 niños (74%) y más de uno en 15/57 (26%). La hospitalización en cuidados intensivos (UCI) fue más frecuente en pacientes con co-detección (OR = 5,5; IC 95%: 1,5-19,6). Los virus más detectados fueron rinovirus/enterovirus (HRV/EV) (29%) y virus respiratorio sincicial (VRS) (25%) y la co-detección más habitual fue HRV/EV-VRS (33%). La infección HRV/EV presentó más frecuentemente imágenes intersticiales mientras que VRS condensaciones ( $p = 0,002$ ). Para HRV/EV, las medianas de intensidad de fluorescencia (MFI, semi-cuantificación) fueron de 1788 y 2456, en co-detección y agente único, respectivamente ( $p = 0,022$ ). En niños con co-detección HRV/EV, se observó una estadía hospitalaria más prolongada comparado con su detección aislada (5 versus 3 días,  $p = 0,028$ ). **Conclusión:** La co-detección viral es frecuente en niños hospitalizados con IRA y se asocia a mayor hospitalización en UCI. Destaca la presencia de HRV/EV en la co-detección viral y una estadía hospitalaria más prolongada. Más estudios son necesarios para definir la relevancia de los virus identificados en co-detección en pacientes pediátricos hospitalizados.

## Abstract

Multiplex polymerase chain reaction (PCR) allows simultaneous detection of respiratory viruses, raising questions about their relevance in the clinical feature. **Objective:** To evaluate the contribution of clinical, epidemiological, and virological factors in the clinical course of children hospitalized due to ARI with viral co-detection. **Patients and Method:** Pediatric patients  $\leq 15$  years old, hospitalized due to ARI at the UC-CHRISTUS Health Network Clinical Hospital between June and October 2014, and who presented a positive respiratory molecular panel test, were included. Respiratory samples (nasopharyngeal swab, tracheal aspiration, or bronchoalveolar lavage) with positive panel tests by Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection Seegene® technique, were analyzed with a second technique (xTAG-RVP-FASTv2 Luminex®, USA), which allows simultaneous and semi-quantitative detection of 17 respiratory viruses. Clinical and epidemiological records were collected. **Results:** One virus was identified in 42/57 children (74%) and two or more in 15/57 (26%). Intensive care unit (ICU) hospitalization was significantly more frequent in patients with viral co-detection (OR = 5,5; IC 95%: 1,5-19,6). The most frequently detected viruses were rhinovirus/enterovirus (HRV/EV) (29%) and respiratory syncytial virus (RSV) (25%), and the most common co-detection was HRV/EV-RSV (33%). In x-rays, patients with HRV/EV infection presented interstitial images more frequently, while RSV was associated with condensations ( $p = 0.002$ ). For HRV/EV, median fluorescence intensity (MFI, semi-quantification) were 1788 and 2456 in co-detection and single agent, respectively ( $p = 0.022$ ). Children with HRV/EV co-detection had a longer hospital stay compared to isolated identification (5 versus 3 days,  $p = 0,028$ ). **Conclusion:** In children hospitalized due to ARI, viral co-detection is frequent and associated with more ICU hospitalizations. Our study highlights the presence of HRV/EV in viral co-detection and longer length of stay. More studies are needed to define the relevance of viral co-detection in hospitalized pediatric patients.

## Keywords:

Viral Infections;  
Co-detection;  
Respiratory Tract Infections;  
Hospitalized Children;  
Multiplex Polymerase Chain Reaction

## Introducción

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) representan un gran problema de salud pública por su morbimortalidad<sup>1</sup>. Esta se define como toda infección respiratoria aguda, ya sea alta o baja con menos de 15 días desde el inicio de síntomas<sup>2</sup>. La gran mayoría de ellas son de etiología viral, incluso en niños con infecciones respiratorias bajas, siendo una causa frecuente de hospitalización<sup>3,4</sup>. La presentación clínica y gravedad de estas infecciones puede ser muy variable, desde cuadros leves a neumonías graves, lo que estaría determinado por factores del hospedero y de los virus involucrados<sup>5</sup>.

Por décadas, el diagnóstico virológico de las IRA se realizó con técnicas de inmunofluorescencia o cultivo, siendo progresivamente reemplazadas por las técnicas

de biología molecular<sup>6</sup>. Dentro de estas, la reacción de polimerasa en cadena (RPC) es una técnica rápida y de alta sensibilidad, que ha permitido aumentar el diagnóstico etiológico llegando a un 67-92% de positividad en niños con IRA<sup>3,4,7-10</sup>. Además, ha contribuido a identificar nuevos virus respiratorios como metapneumovirus (hMPV) y bocavirus (HBoV)<sup>11,12</sup>, observándose que esta técnica tiene un impacto epidemiológico y eventual reducción la tasa de prescripción de antimicrobianos<sup>13</sup>.

Recientemente, se han desarrollado técnicas de RPC múltiple que han aportado valiosa información sobre la estacionalidad y espectro clínico de las IRA virales<sup>9</sup>, como por ejemplo rinovirus (HRV) y su asociación con cuadros respiratorios graves<sup>14</sup>. Por otra parte, esta técnica ha permitido aumentar la detección

de más de un virus en forma simultánea. Los virus más frecuentemente identificados en co-detección son HRV, coronavirus (CoV) y HBoV<sup>8,13</sup>. La frecuencia de co-detección viral por RPC múltiple fluctúa entre 6-35% de los pacientes hospitalizados y ambulatorios, siendo más alto el porcentaje en niños pequeños<sup>8,13</sup>. La presencia de más de un virus dificulta la interpretación del rol que juega cada virus en la fase aguda de la enfermedad y la temporalidad con que cada uno ha infectado al paciente. Algunos estudios han demostrado que la co-detección se asocia a mayor presencia de fiebre, estadía hospitalaria, progresión a neumonía, leucocitosis y uso de antibióticos<sup>3,15,16</sup>. Sin embargo, otros autores no han observado diferencias en síntomas ni progresión clínica<sup>17-20</sup>.

La medición cuantitativa de los agentes virales encontrados podría ayudar en la interpretación de la relevancia clínica de los distintos virus identificados en pacientes pediátricos con IRA. En el caso de HRV y CoV, se han demostrado cargas virales significativamente más elevadas en presencia de síntomas, en comparación a las cargas encontradas en sujetos asintomáticos<sup>21</sup>. Sin embargo, no se ha establecido aún una correlación entre gravedad y carga viral<sup>15</sup>. Una revisión sistemática reciente no logró determinar la relevancia de las co-detecciones virales en la severidad de las IRA en niños y sugiere realizar más estudios que permitan esclarecer este punto<sup>20</sup>.

Nuestro objetivo fue determinar el rol patogénico de los distintos virus en co-detección por RPC múltiple, según características clínicas, epidemiológicas y virológicas de niños hospitalizados con IRA.

## Pacientes y Método

Estudio de diseño transversal, realizado en el Hospital Clínico de la Red de Salud UC-CHRISTUS, que corresponde a nivel terciario de complejidad de la Región Metropolitana de Santiago, Chile. Se incluyeron todos los pacientes pediátricos  $\leq 15$  años, hospitalizados por IRA en los servicios de cuidados básicos y UCI pediátrica, entre los meses de junio y octubre de 2014 (invierno-primavera), y que presentaron un panel molecular respiratorio positivo. IRA se definió como infección del aparato respiratorio con una evolución menor a 15 días, con síntomas tales como tos, rinorrea, obstrucción nasal, odinofagia, disfonía o dificultad respiratoria, acompañados o no de fiebre<sup>2</sup>. Se incluyeron pacientes hospitalizados por IRA baja con diagnóstico de laringitis (crup), traqueitis, neumonía, bronquitis obstructiva, bronquiolitis (u otras patologías similares incluidas en CIE-10)<sup>22</sup>. Se consideraron además pacientes con enfermedad tipo influenza, síndrome coqueluchoídeo, crisis de cianosis, apneas y BRUE (evento breve resuelto no explicado)<sup>22</sup>. Se excluyeron

los pacientes con síntomas respiratorios iniciados después de las 48 h del ingreso. No se consideró criterio de exclusión ninguna patología de base de los pacientes.

El examen utilizado para el diagnóstico de los pacientes incluidos correspondió a una RPC de tiempo final (Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection, Seegene<sup>®</sup> Korea), realizada en el Laboratorio de Infectología y Virología Molecular de la misma institución. Este examen diagnóstico consiste en la amplificación de material genético de 15 virus respiratorios distintos (virus respiratorio sincicial (VRS) A y B, adenovirus (ADV), hMPV, influenza A (FluA) y B (FluB), parainfluenza (HPIV) subtipos 1, 2, 3 y 4, HRV, enterovirus (EV), HBoV, CoV subtipos 229E/NL63 y OC43), en forma simultánea y específica, utilizando el termociclador 2720 Thermal Cycler (Applied BioSystems<sup>®</sup>, USA), con visualización posterior en gel de agarosa, entregando un resultado cualitativo.

Se definió co-detección como la identificación de 2 o más virus en forma simultánea a partir de una misma muestra respiratoria. Se consideró sobreinfección bacteriana cuando el médico tratante lo registró en la ficha clínica. Todos los informes radiológicos fueron realizados por un radiólogo de la Red Salud UC-Christus.

Las muestras respiratorias (hisopado nasofaríngeo, aspirado traqueal o lavado broncoalveolar) con paneles positivos por técnica Seeplex<sup>®</sup> RV15 OneStep ACE Detection Seegene<sup>®</sup>, fueron almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  y analizadas con una segunda técnica (xTAG-RVP-FASTv2 Luminex<sup>®</sup>, USA) en forma posterior (máximo 2 meses desde la toma de la muestra). Este segundo test permite la detección simultánea y semi-cuantitativa de 17 virus respiratorios: VRS, ADV, hMPV, FluA subtipos H1, H3 y H1N1 2009, Flu B, HPIV subtipos 1, 2, 3 y 4, HRV/EV (no se diferencian al identificarse con partidores en común), HBoV, CoV subtipos OC43, 229E, NL63 y HKU1. Para el paso de amplificación e hibridación se utilizó el termociclador ProFlex TM (Applied Biosystem<sup>®</sup>, USA). Para la visualización de los resultados se utilizó el equipo MAGPIX de Luminex<sup>®</sup>, USA: una señal, mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), es generada para cada blanco, proporcionando una estimación semi-cuantitativa de la carga viral en la muestra analizada. Se compararon los valores de MFI de los virus al encontrarse como patógeno único o en co-detección.

El análisis estadístico se realizó con el programa Prism Versión 5, GraphPad Software (2012, USA). Para las variables categóricas se utilizó el test exacto de Fisher y para variables continuas los tests no paramétricos de Mann Whitney (variables no pareadas) y Wilcoxon (variables pareadas). Se evaluó la relación entre variables dicotómicas calculando el *Odd Ratio* con intervalo de confianza de 95% (OR, IC 95%). Se consideró un valor p significativo  $< 0,05$ .

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Ciencias de la Salud UC (Número Proyecto: 14-312). Se solicitó firma de consentimiento informado a los padres o tutores legales, además del asentimiento de niños entre 7 y 18 años en forma presencial o telefónica. Se registraron los antecedentes clínicos y epidemiológicos de los pacientes en formulario especial, mediante un cuestionario presencial, telefónico y revisión de ficha clínica. Posteriormente se ingresaron datos en base especialmente diseñada.

## Resultados

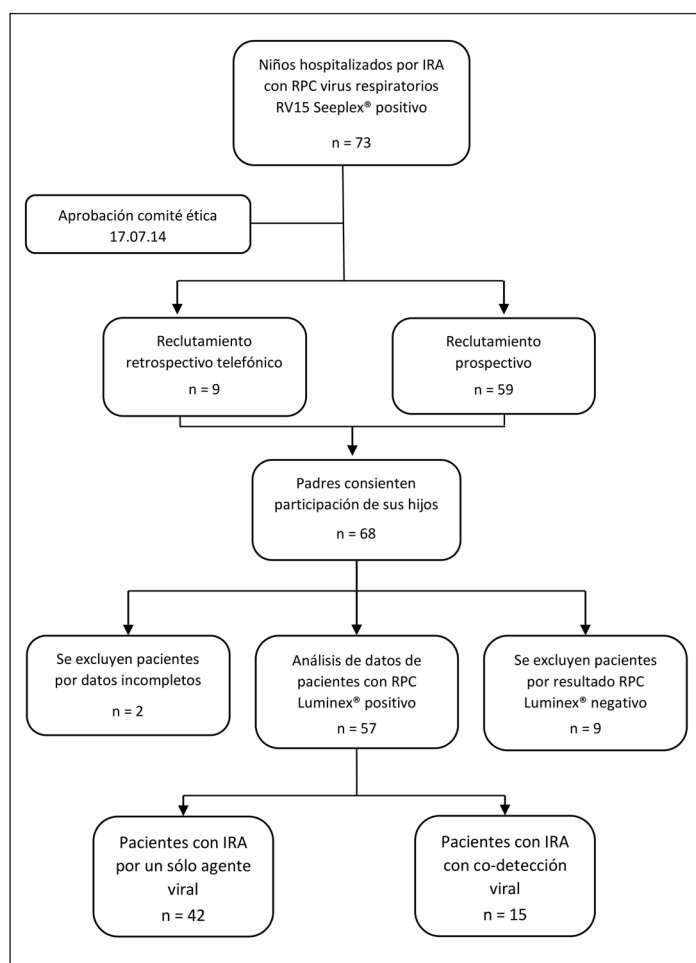
En el período del estudio se identificaron 73 niños hospitalizados por IRA con muestras positivas para panel viral respiratorio molecular y con muestra congelada disponible. Se reclutaron 68 sujetos que aceptaron participar en el estudio, 2 pacientes se excluyeron por datos clínicos incompletos. Al realizar la RPC por una segunda técnica semi-cuantitativa de las muestras almacenadas, se obtuvo un resultado positivo para algún virus en 57 pacientes (figura 1). Estos 57 niños fueron

incluidos en el análisis del estudio y sus características clínicas se describen en la tabla 1.

En las 57 muestras de estos pacientes, se identificaron un total de 77 virus por la segunda técnica de RPC. En la figura 2a, se observa la distribución de las etiologías virales encontradas, destacando la presencia de HRV/EV (29%), VRS (25%) y hMPV (21%). En 42 muestras (74%) se identificó sólo un virus y en 15 (26%) se detectó más de un agente (12 con 2 virus y 3 con 3 o más virus). En este último grupo, 11 pacientes presentaron co-detección con HRV/EV, 8 con VRS y 4 con hMPV. La co-detección más frecuente correspondió a VRS y HRV/EV en un 33% (figura 2b).

La tabla 1 muestra las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con un virus o con co-detección. No hubo diferencias significativas en ninguna de las características entre los dos grupos, a excepción de la hospitalización en UCI, siendo esta última significativamente más frecuente en los pacientes con co-detección viral con un OR = 5,5 (IC 95%: 1,5-19,6). En particular, los pacientes infectados con HRV/EV como agente único presentaron hospitalizaciones más cortas (mediana 3 días, rango 2-17 días) que aquellos con co-detección con HRV/EV (mediana 5 días rango 2-14 días,  $p = 0,028$ ). De los 57 pacientes, 28 (49%) presentaron sobreinfección bacteriana. La mayoría correspondió a otitis media aguda ( $n = 15$ ) y neumonía ( $n = 12$ ), seguido de sobreinfección por *Mycoplasma pneumoniae* ( $n = 3$ ), pleuroneumonía ( $n = 1$ ) y atelectasia sobreinfectada ( $n = 1$ ). En los pacientes con sobreinfección bacteriana no se observó predominio de ningún tipo de virus en particular. Tampoco se observó diferencia en la frecuencia de sobreinfección bacteriana entre los grupos con y sin co-detección viral (tabla 1). Respecto a los antecedentes epidemiológicos, no hubo diferencia entre los grupos respecto al número de enfermos en casa, visitas previas a lugares concurridos, número de habitantes en la casa o asistencia a sala cuna o colegio.

Al comparar las características clínicas de los agentes más frecuentemente identificados, HRV/EV y VRS, no hubo diferencias con respecto a la edad, sexo, uso de oxígeno, sobreinfección bacteriana, días de hospitalización o ingreso a UCI. Sin embargo, al evaluar las imágenes radiológicas, se observó con mayor frecuencia la presencia de infiltrados intersticiales en pacientes infectados con HRV/EV como agente único (6/11), a diferencia de los pacientes infectados por VRS, donde los hallazgos más frecuentes fueron las condensaciones y/o atelectasias asociadas a un patrón intersticial (11/11) ( $p = 0,002$ ). Concordante con estos hallazgos, se observó lo mismo respecto a los diagnósticos de alta, siendo la neumonía más frecuente en los pacientes con VRS (10/11) que aquellos infectados por HRV/EV (2/11) como agentes únicos ( $p = 0,002$ ). Las diferen-

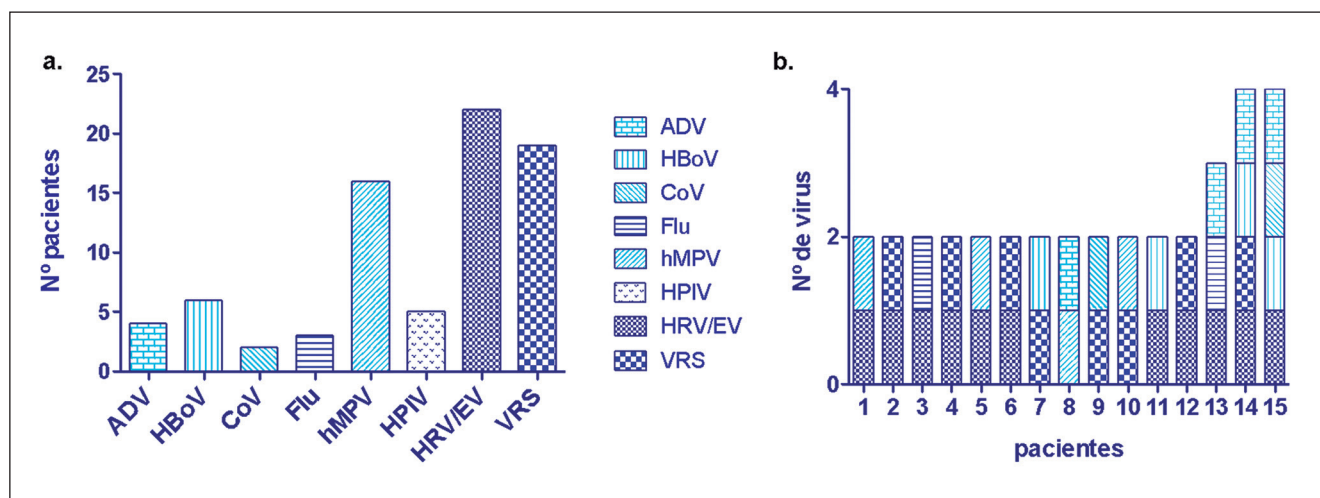


**Figura 1.** Diagrama de flujo del enrolamiento de pacientes al estudio. IRA: infección respiratoria aguda, RPC: reacción de polimerasa en cadena.

**Tabla 1. Características clínico-epidemiológicas de niños hospitalizados por infecciones respiratorias agudas, con y sin co-detección viral**

	Virus único n = 42/57 (74%)	Co-detección n = 15/57 (26%)	Valor p
Sexo femenino, n (%)	18 (42)	7 (47)	1,000
Edad, mediana años (rango)	1,41 (0,08-13,8)	0,8 (0,12-3,6)	0,183
Mediana días de síntomas previo hospitalización (rango)	4 (1-10)	4 (2-10)	0,971
Presenta fiebre, n (%)	32 (76)	11 (73)	1,000
Patologías de base, n (%)	26 (61,9)	12 (80)	0,339
Vacuna influenza 2014, n (%)*	16 (47)	9 (69)	0,207
Vacuna neumocócica conjugada, n (%)**	30 (99)	14 (100)	1,000
Hospitalización cuidados intensivos, n (%)	9 (21)	9 (60)	0,009
Uso oxígeno, n (%)	36 (86)	15 (100)	0,325
Radiología, n (%)***			
Intersticial	38 (90,5)	14 (100)	0,562
Condensación	22 (52,4)	7 (50)	1,000
Atelectasia	16 (38)	6 (43)	0,762
Duración hospitalización, mediana días (rango)	4 (1-17)	5 (2-14)	0,074
Diagnóstico final, n (%)			
Neumonía viral	21 (50)	7 (47)	1,000
Bronquiolitis	9 (21)	4 (27)	0,727
SBO/ crisis asma	17 (40)	7 (47)	0,765
Sd coqueluchoídeo/apnea	3 (7)	0	0,559
Laringitis	2 (5)	1 (7)	1,000
Sobreinfección bacteriana	20 (48)	8 (53)	0,769

\*Se incluyen pacientes mayores de 6 meses (n = 34 y n = 13). \*\*se incluyen pacientes mayores de 2 meses (n = 31 y n = 14) y nacidos después de noviembre 2010 (incorporación de la vacuna al PNI). \*\*\*Se dispone del informe radiológico en 14 pacientes del grupo co-detección. IRA: infección respiratoria aguda, SBO: síndrome bronquial obstructivo.



**Figura 2.** Virus identificados en secreciones respiratorias de niños hospitalizados por infecciones respiratorias agudas, usando Seeplex® RV15 OneStep ACE Detection de Seegene® y xTAG-RVP-FASTv2 Luminex®. **a:** Virus identificados en los 57 pacientes con IRA (infección respiratoria aguda) como virus único o en co-detección (ADV: adenovirus, HBoV: bocavirus, CoV: coronavirus, Flu: influenza A, hMPV: metapneumovirus humano, HPIV: parainfluenza 3 y 4, HRV/EV: rinovirus/enterovirus, VRS: virus respiratorio sincial). **b:** Distribución de los virus identificados en 15 pacientes con co-detección.

cias significativas observadas en los hallazgos radiológicos y en los diagnósticos de alta, no se demostraron al comparar HRV/EV y VRS en co-detección.

Se caracterizó el subgrupo de pacientes que ingresaron a UCI (n = 18), en donde se observó una predominancia significativa de HRV/EV (tabla 2). No se encontraron diferencias entre aquellos pacientes que tenían una infección por virus único o en co-detección con respecto al motivo de ingreso a UCI, siendo el requerimiento alto en aporte de oxígeno el más frecuente en ambas situaciones. Respecto a los hallazgos radiológicos, predominó el compromiso intersticial en ambos grupos. No hubo diferencias tampoco en los días de hospitalización en UCI, ni en el diagnóstico final. Entre estos pacientes, hubo un caso de shock séptico de origen pulmonar con compromiso hemodinámico

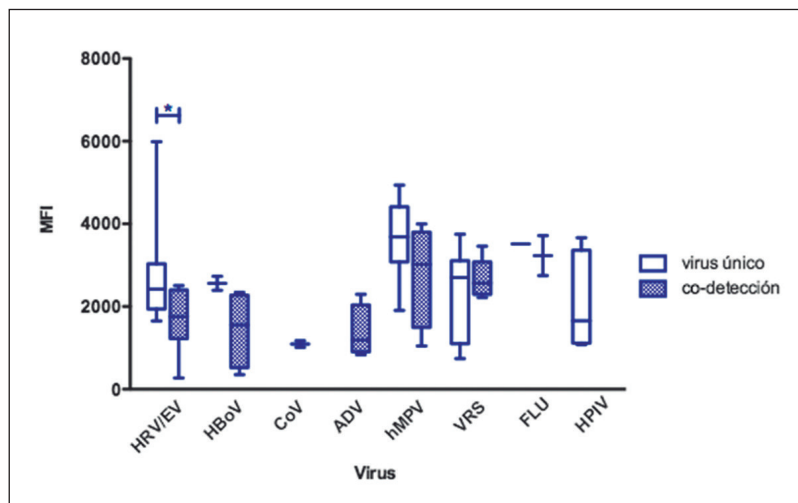
en cada grupo, que respondieron adecuadamente al aporte de volumen sin requerir drogas vasoactivas. El número de pacientes que consultaron previamente al ingreso (considerando los últimos 4 meses que antecedieron la hospitalización) fue significativamente mayor en el grupo de co-detección (tabla 2). De los 11 pacientes con consultas previas, estas fueron en su mayoría ambulatorias (10/11) y por causa respiratoria (9/11).

Se observó una tendencia a encontrar mayores valores de MFI de los virus al estar solos, comparados con co-detección. Sin embargo, esta diferencia fue estadísticamente significativa únicamente para HRV/EV (MFI: 2456 y 1788, respectivamente, p = 0,022, figura 3). Para este virus en particular, no se encontró relación de las MFI con ninguno de los parámetros

**Tabla 2. Características clínicas de niños hospitalizados en Unidad de Cuidados Intensivos por infecciones respiratorias agudas con y sin co-detección viral**

	Virus único n = 9	Co-infección n = 9	Valor p
Edad, mediana años (rango)	1,83 (0,08-13,8)	0,8 (0,46-3,6)	0,730
Distribución virus, n:			
HRV/EV	3	8	0,049
VRS	3	4	1,000
Consultas previas, n	2	9	0,002
Vacuna influenza 2014, n*	3	6	0,580
Causa ingreso UCI, n			
Apnea/cianosis	1	1	1,000
Altos requerimientos oxígeno	5	5	1,000
Patología pulmonar base	1	1	1,000
Shock séptico origen pulmonar	1	1	1,000
Otras****	1	1	1,000
Radiología, n**			
Intersticial	7	8	1,000
Condensación	4	5	1,000
Atelectasia	4	5	1,000
Requerimientos oxígeno (FiO2 % máxima)	50	32	0,100
Uso ventilación mecánica, n ***	3	2	1,000
Diagnóstico final, n:			
Neumonía viral	5	4	1,000
Bronquiolitis	1	1	1,000
SBO/ crisis asma	3	4	1,000
Sd coqueluchoideo/apnea	2	0	0,471
Laringitis	0	1	1,000
Sobreinfección bacteriana	3	5	0,637
Días en UCI, mediana (rango)	3 (1-14)	2 (1-5)	0,300

\*Se incluyen pacientes mayores de 6 meses (n = 6 y n = 8). \*\*Se dispone del informe radiológico en 8 pacientes del grupo coinfección. \*\*\*Incluye uso Bipap. \*\*\*\*Otras patologías: laringitis y Síndrome coqueluchoideo. UCI: unidad cuidados intensivos, IRA: infección respiratoria aguda, HRV/EV: rinovirus/enterovirus, VRS: virus respiratorio sincicial, FiO<sub>2</sub>: fracción inspirada de oxígeno, SBO: síndrome bronquial obstructivo.



**Figura 3.** Intensidad de fluorescencia media de virus respiratorios en presencia o ausencia de co-infección viral. MFI (intensidad de fluorescencia media) de los virus identificados como virus único (vacío) o en co-detección (achurado) en las muestras respiratorias de niños hospitalizados por IRA (infección respiratoria aguda), desglosado por virus. Línea horizontal representa la mediana y barras el rango mínimo-máximo. Se realiza test Mann-Whitney para comparar los MFI de cada virus sólo o en co-detección (\* $p < 0,05$ : significativo). (ADV: adenovirus, HBoV: bocavirus, CoV: coronavirus, Flu: influenza A, hMPV: metapneumovirus humano, HPIV: parainfluenza 3 y 4, HRV/EV: rinovirus/enterovirus, VRS: virus respiratorio sincial).

clínicos evaluados (edad, fiebre, condensación en la radiografía, uso ventilación mecánica, traslado a UCI, duración de hospitalización; resultados no mostrados).

## Discusión

Este estudio buscó evaluar la contribución de factores clínicos, epidemiológicos y virológicos para interpretar el cuadro clínico de niños hospitalizados por IRA con co-detección viral. En un 26% de los niños hospitalizados con IRA se identificó co-detección viral mediante RPC múltiple y HRV/EV fue el más frecuentemente encontrado. Respecto a la relevancia clínica de la co-detección viral, en nuestra población ésta se asoció con mayor ingreso a UCI y hospitalización más prolongada en caso de co-detección con HRV/EV.

En cuanto a la frecuencia de co-detección viral, esta fue similar a la descrita en la literatura<sup>8,13</sup>. Las manifestaciones clínicas y los diagnósticos no difieren entre los niños que presentan infección por sólo un virus, comparado a aquellos con co-detección. En cuanto a la edad, no existió una diferencia significativa, sin embargo hubo tendencia a menor edad en el grupo con co-detección, lo que coincide con la literatura, con una mayor frecuencia de identificación de más de 1 virus en niños menores de 24 a 36 meses<sup>23,24</sup>.

Distintas publicaciones han estudiado la etiología de la neumonía en niños hospitalizados, en donde, en la mayoría de los casos se identificó al menos un virus (45%-66%). HRV fue identificado con una alta frecuencia, siendo detectado hasta en el 45% de los casos con etiología viral y en 25% de los niños con IRA grave (25, 26). De la misma manera, en nuestro estudio des-

taó la presencia de HRV/EV como agente etiológico más frecuente, en particular en niños con co-detección hospitalizados en UCI. Recientemente, Asner et al. sugirió que la presencia de HRV/EV podría ser predictor de severidad<sup>27</sup>. Sin embargo, en el análisis multivariado este hallazgo no logró significancia estadística, a diferencia de la patología de base. Esto difiere de nuestro estudio, donde no se encontraron diferencias en las patologías de base de los pacientes de UCI comparado con los pacientes en servicios de cuidados básicos (datos no mostrados). Esta discrepancia podría deberse al análisis de una muestra pequeña con un bajo número de pacientes en UCI, seleccionados en un único centro hospitalario. La co-detección más frecuentemente encontrada correspondió a VRS y HRV/EV. La identificación de estos dos virus juntos es una de las más descritas en la literatura<sup>3,26,28,29</sup>. Nuestro trabajo se realizó a finales del invierno de 2014, en que se observó una alta circulación de HRV/EV y hMPV, que podría explicar la frecuencia de la distribución observada. Además, no se realizó un análisis diferenciado de HRV y EV en aquellos en que se detectó HRV/EV, lo que constituye un factor limitante en la interpretación de la alta frecuencia de esta etiología.

En relación a la relevancia clínica de la co-detección, se observó un mayor ingreso a UCI en este grupo de pacientes. Este hallazgo es similar a lo reportado por Richard et al, en donde la presencia de 2 o más virus en lactantes menores aumentó en 2,7 veces la probabilidad de ingreso a esta unidad<sup>30</sup>. Un meta-análisis destacó la identificación de VRS o hMPV en co-detección y la gravedad del cuadro, mientras que otros autores plantean que este sinergismo parece aún controversial<sup>19,31</sup>. Una hipótesis que podría explicar nuestros resultados, es que los virus en conjunto fueron responsables de una mayor gravedad clínica. Sin

embargo, no se encontró diferencia en los motivos de ingreso a UCI, en los requerimientos de oxígeno máximos o uso de ventilación mecánica respecto a los pacientes infectados con un sólo virus. Por otra parte, es planteable la hipótesis que esta co-detección se deba a una coincidencia temporal. La co-detección viral puede representar inflamación previa de las vías respiratorias por un agente lo que determina que la siguiente IRA evolucione en forma más severa. En nuestro estudio, se observó una diferencia significativa en el dato anamnésico de un mayor número de consultas previas al ingreso al hospital. Se podría explicar la co-detección por una nueva infección en un niño con excreción viral prolongada de una infección respiratoria previa. En efecto, se ha detectado excreción de material genético viral en niños hasta 5-6 semanas después del inicio del cuadro clínico, como ocurre con HRV y HBoV<sup>25,32</sup>. Además, en 28% de niños asintomáticos se ha detectado un agente viral, porcentaje que varía según la edad, llegando hasta un 44% en menores de 1 año y 19% en adolescentes<sup>21</sup>. HRV y CoV fueron los agentes más comúnmente identificados en estos sujetos asintomáticos<sup>21,33</sup>. Por lo tanto, en paciente con IRA y un panel respiratorio viral con co-detección, es difícil discriminar exclusivamente con el cuadro clínico si se trata de una co-infección real, infecciones seriadas o un paciente excretor asintomático. Por otra parte, Meskill et al no demostraron mayor severidad en caso de co-detección viral en niños hospitalizados, a diferencia de co-infección viral-bacteriana<sup>34</sup>. Nuestro reporte, identificó una alta frecuencia de sobreinfección bacteriana, similar o mayor a lo descrito en la literatura<sup>24,27,32</sup>. Esto podría estar determinado por la mayor complejidad de nuestros pacientes, hospitalizados en un centro de atención terciaria. Se observó frecuencias semejantes de sobreinfección bacteriana en el grupo con y sin co-detección, lo que indica que el documentar una infección bacteriana no actuaría como factor confundente en nuestros resultados. Estos hallazgos sugieren que, frente a una sospecha de sobreinfección bacteriana, la co-detección viral no excluye estudiar su presencia.

En nuestro análisis, se observó además una mayor estadía hospitalaria sólo en HRV/EV en co-detección respecto a la infección única por este virus. Esta asociación ha sido apoyada por pocos estudios, en efecto, un meta-análisis la descartó con bajo nivel de evidencia<sup>16,17</sup>. Existen otras asociaciones en la literatura que apoyan una mayor estadía hospitalaria en co-detección con virus tradicionales como VRS e influenza<sup>35</sup>. En forma controversial, la revisión sistemática de Scotta et al. no demostró aumento de riesgo asociado a duración de estadía hospitalaria<sup>20</sup>.

Por último, respecto a la semi-cuantificación de la carga viral, se observó una menor MFI para HRV/EV

en co-detección que al identificarlo como agente único. Esto podría explicarse por un menor o nulo valor patogénico, en donde predomina el 2do virus con mayor relevancia. Sin embargo, esto también podría ser atribuido a la competencia que se produce en la etapa inicial de la reacción de RPC (enzimas, nucleótidos, etc). Es importante destacar que no es posible comparar del todo los valores de MFI entre los distintos virus, dado que cada partidor posee diferente rendimiento para cada uno de ellos. Nuestros resultados no mostraron una asociación de las MFI y las características clínicas del cuadro. No obstante, en los últimos años, diferentes estudios han destacado la utilidad clínica de la carga viral en el pronóstico, como en el caso de VRS, donde cargas virales elevadas se han asociado a mayor severidad, estadía hospitalaria prolongada y mayor duración de síntomas en bronquiolitis<sup>36-38</sup>. También se ha usado para evaluar respuesta a tratamiento, como en el caso de influenza, en donde la carga viral demostró ser una buena herramienta para evaluar la respuesta a la terapia con oseltamivir en pacientes inmunocomprometidos<sup>39</sup>. Por lo tanto, se requieren más estudios con nuevas técnicas de cuantificación y evaluación de la portación y excreción viral, para comprender el rol y la relevancia clínica de la presencia de más de un virus en las IRA<sup>40</sup>.

La co-detección viral tiene una alta frecuencia en pediatría. Esto se debe probablemente por las características inmunológicas de los niños y por la alta transmisión de los virus respiratorios en este grupo etario dado el estrecho contacto social entre ellos. Sin embargo, los factores clínicos, epidemiológicos y virológicos estudiados no permiten determinar aún un cambio en la conducta clínica de niños hospitalizados por IRA con co-detección viral.

## Conclusiones

Las co-detecciones virales son frecuentes en niños hospitalizados y su identificación ha sido optimizada gracias al creciente uso de técnicas de biología molecular. El diagnóstico de una co-detección podría estar asociado a evolución clínica desfavorable con mayor ingreso a UCI y mayor estadía hospitalaria ante la presencia de HRV/EV. El análisis virológico realizado en nuestro estudio no permite inferir una relevancia clínica de cada uno de los virus identificados en co-detección y amerita mayor investigación.

## Responsabilidades Éticas

**Protección de personas y animales:** Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron

a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

**Confidencialidad de los datos:** Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado:** Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Financiamiento

Laboratorio de Infectología y Virología Molecular, Red de Salud UC-Christus.

## Agradecimientos

A Dr. Jaime Cerda por su ayuda en el análisis estadístico.

## Referencias

- Forum of International Respiratory Societies: The Global Impact of Respiratory Disease. Sheffield, European Respiratory Society, 2017. [https://www.who.int/gard/publications/The\\_Global\\_Impact\\_of\\_Respiratory\\_Disease.pdf?ua=1](https://www.who.int/gard/publications/The_Global_Impact_of_Respiratory_Disease.pdf?ua=1).
- Correa J GJ, Posada R. Fundamentos de pediatría Tomo III: Infectología y neumología. Cuarta Edición. Ed Corporación para Investigación Biológica. Medellín, Colombia; 2014.
- Esposito S, Daleno C, Prunotto G, et al. Impact of viral infections in children with community-acquired pneumonia: results of a study of 17 respiratory viruses. *Influenza Other Respir Viruses*. 2013;7:18-26.
- Vallieres E, Renaud C. Clinical and economical impact of multiplex respiratory virus assays. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;76:255-61.
- Tregoning JS, Schwarze J. Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23:74-98.
- DIPLAS/MINSAL. Situación de Influenza y Virus Respiratorios. Informe 2020 (SE 1-23), 2020. <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2020/06/Informe-SE-1-23-2020-Minsal-Influenza-web.pdf>
- Budnik I, Ferrés M, Pardo T, et al. Aporte de la biología molecular en el diagnóstico de infecciones respiratorias agudas *Rev Chil Enferm Respir*. 2016;32:224-32.
- Gharabaghi F, Hawan A, Drews SJ, Richardson SE. Evaluation of multiple commercial molecular and conventional diagnostic assays for the detection of respiratory viruses in children. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1900-6.
- Olofsson S, Brittain-Long R, Andersson LM, Westin J, Lindh M. PCR for detection of respiratory viruses: seasonal variations of virus infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9:615-26.
- Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet*. 2011;377:1264-75.
- Flores CJ, Vizcaya AC, Araos BR, et al. Bocavirus humano en Chile: características clínicas y epidemiológicas en niños con infecciones respiratorias. *Rev Chilena Infectol*. 2011;28:504-11.
- Prado M, Perret C, Montecinos L, et al. Metapneumovirus humano como causa de hospitalización en niños menores de 3 años con diagnóstico de infección respiratoria aguda durante el año 2004. *Rev Chilena Infectol*. 2007;24:19-26.
- Brittain-Long R, Westin J, Olofsson S, Lindh M, Andersson LM. Access to a polymerase chain reaction assay method targeting 13 respiratory viruses can reduce antibiotics: a randomised, controlled trial. *BMC Med*. 2011;9:44.
- Louie JK, Roy-Burman A, Guardia-Labar L, et al. Rhinovirus associated with severe lower respiratory tract infections in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:337-9.
- Franz A, Adams O, Willems R, et al. Correlation of viral load of respiratory pathogens and co-infections with disease severity in children hospitalized for lower respiratory tract infection. *J Clin Virol*. 2010;48:239-45.
- Gil J, Almeida S, Constant C, et al. Short-term relevance of lower respiratory viral coinfection in inpatients under 2 years of age. *An Pediatr (Barc)*. 2018;88:127-35.
- Asner SA, Science ME, Tran D, Smieja M, Merglen A, Mertz D. Clinical disease severity of respiratory viral co-infection versus single viral infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9:e99392.
- Falkenstein-Hagander K, Mansson AS, Redmo J, Nilsson Wimar P, Widell A. Viral aetiology and clinical outcomes in hospitalised infants presenting with respiratory distress. *Acta Paediatr*. 2014;103:625-9.
- Lim FJ, de Klerk N, Blyth CC, Fathima P, Moore HC. Systematic review and meta-analysis of respiratory viral coinfections in children. *Respirology*. 2016;21:648-55.
- Scotta MC, Chakr VC, de Moura A, et al. Respiratory viral coinfection and disease severity in children: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol*. 2016;80:45-56.
- Jansen RR, Wieringa J, Koekkoek SM, et al. Frequent detection of respiratory viruses without symptoms: toward defining clinically relevant cutoff values. *J Clin Microbiol*. 2011;49:2631-6.
- MINSAL SGC. Guía Clínica AUGÉ "Infección respiratoria baja de manejo ambulatorio en menores de 5 años" 2013, <https://www.minsal.cl/portal/url/item/7220fdc4341244a9e04001011f0113b9.pdf>.
- Kaida A, Kubo H, Takakura K, et al. Associations between co-detected respiratory viruses in children with acute respiratory infections. *Jpn J Infect Dis*. 2014;67:469-75.
- Martin ET, Kuypers J, Wald A, Englund JA. Multiple versus single virus respiratory infections: viral load and clinical disease severity in hospitalized children. *Influenza Other Respir Viruses*. 2012;6:71-7.
- Pavia AT. Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses, new viruses, and the role of diagnosis. *Clin Infect Dis*. 2011;52 Suppl 4:S284-9.
- Pretorius MA, Madhi SA, Cohen C, et al. Respiratory viral coinfections identified by a 10-plex real-time reverse-transcription polymerase chain reaction assay in patients hospitalized with severe acute respiratory illness--South Africa, 2009-2010. *J Infect Dis*. 2012;206 Suppl 1:S159-65.
- Asner SA, Rose W, Petrich A, Richardson S, Tran DJ. Is virus coinfection a predictor of severity in children with viral

- respiratory infections? *Clin Microbiol Infect.* 2015;21:264 e1-6.
28. Kouni S, Karakitsos P, Chranioti A, Theodoridou M, Chrousos G, Michos A. Evaluation of viral co-infections in hospitalized and non-hospitalized children with respiratory infections using microarrays. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:772-7.
29. Martinez-Roig A, Salvado M, Caballero-Rabasco MA, Sanchez-Buenavida A, Lopez-Segura N, Bonet-Alcaina M. Viral coinfection in childhood respiratory tract infections. *Arch Bronconeumol.* 2015;51:5-9.
30. Richard N, Komurian-Pradel F, Javouhey E, et al. The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27:213-7.
31. Debiaggi M, Canducci F, Ceresola ER, Clementi M. The role of infections and coinfections with newly identified and emerging respiratory viruses in children. *Virology.* 2012;9:247.
32. Feikin DR, Fu W, Park DE, et al. Is Higher Viral Load in the Upper Respiratory Tract Associated With Severe Pneumonia? Findings From the PERCH Study. *Clin Infect Dis.* 2017;64:S337-S46.
33. Sanghavi SK, Bullotta A, Husain S, Rinaldo CR. Clinical evaluation of multiplex real-time PCR panels for rapid detection of respiratory viral infections. *J Med Virol.* 2012;84:162-9.
34. Meskill SD, O'Bryant SC. Respiratory Virus Co-infection in Acute Respiratory Infections in Children. *Curr Infect Dis Rep.* 2020;22:3.
35. Charlton CL BE, Ginocchio CC, Hatchette TF, Jerris RC, Li Y, Loeffelholz M, McCarter YS, Miller MB, Novak-Weekley S, Schuetz AN, Tang YW, Widen R, Drews SJ. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Viruses Causing Acute Respiratory Tract Infections. *Clinical Microbiology Reviews* 2018;32 e00042-18.
36. Hasegawa K, Jartti T, Mansbach JM, et al. Respiratory syncytial virus genomic load and disease severity among children hospitalized with bronchiolitis: multicenter cohort studies in the United States and Finland. *J Infect Dis.* 2015;211:1550-9.
37. Skjerven HO, Megremis S, Papadopoulos NG, et al. Virus Type and Genomic Load in Acute Bronchiolitis: Severity and Treatment Response With Inhaled Adrenaline. *J Infect Dis.* 2016;213:915-21.
38. Zhou L, Xiao Q, Zhao Y, Huang A, Ren L, Liu E. The impact of viral dynamics on the clinical severity of infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Med Virol.* 2015;87:1276-84.
39. Hijano DR, Brazelton de Cardenas J, Maron G, et al. Clinical correlation of influenza and respiratory syncytial virus load measured by digital PCR. *PLoS One.* 2019;14:e0220908.
40. Jartti T, Soderlund-Venermo M, Hedman K, Ruuskanen O, Makela MJ. New molecular virus detection methods and their clinical value in lower respiratory tract infections in children. *Paediatr Respir Rev.* 2013;14:38-45.