



Detección de Virus y Bacterias para infecciones respiratorias agudas en menores de 15 años con la aplicación de técnica inmunofluorescencia indirecta

(Detection of Viruses and Bacteria for acute respiratory infections in children under 15 years of age with the application of indirect immunofluorescence technique)

*Lizbeth Geovanna Silva Guayasamín ⁽¹⁾, <https://orcid.org/0000-0001-7701-4142>, lizgeovita@gmail.com

Christian Andrés Silva Sarabia ⁽²⁾, <https://orcid.org/0000-0002-6923-1996>, andreshinosil@hotmail.com

Susana del Pilar Pino Burgos ⁽³⁾, <https://orcid.org/0000-0001-8595-410X/print>, susipinob1955@yahoo.es

(1). ESPOCH, Facultad de Salud Pública, Docente Carrera de Medicina, Doctorante de Ciencias de la Salud, División de Estudios de Graduados. Facultad de Medicina. Universidad de Zulia. Venezuela. Panamericana Sur 1 ½ km, 060106, Riobamba, Ecuador

(2). Ministerio de Salud Pública, Coordinación Zonal 3 de Salud. Coordinador Zonal 3 Salud, Av. Humberto Moreano 2069 y Alfonso Villagómez, 060106, Riobamba, Ecuador, División de Estudios de Graduados. Facultad de Medicina. Universidad de Zulia. Venezuela.

(3). ESPOCH, Facultad de Salud Pública, Docente Carrera de Medicina, Panamericana Sur 1 ½ km, 060106, Riobamba, Ecuador,

*Correspondencia. Tel.: +593992059356, E-mail lizgeovita@gmail.com (L Silva-Guayasamín)

Recibido: 26-11-2021 Aceptado: 09-01-2022

RESUMEN

Introducción: Uno de los mayores problemas de salud pública en Ecuador causado por virus y bacterias son las afecciones de las vías respiratorias, presentándose con mayor frecuencia en la población infantil. **Objetivo:** describir el proceso de detección de Virus y Bacterias para infecciones respiratorias agudas en menores de 15 años con la aplicación de técnica inmunofluorescencia indirecta. **Metodología:** Se realizó una revisión bibliográfica narrativa, esta búsqueda abarcó artículos e investigaciones de los últimos 10 años, extraídos de Scielo, Scopus, Pubmed y Latindex. **Resultados:** Se seleccionaron 32 documentos relacionados con la descripción de los virus y bacterias causantes de infecciones respiratorias y la aplicación de la técnica inmunofluorescencia indirecta, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión planteados. **Discusión:** Se identificaron los agentes etiológicos de las afecciones respiratorias más comunes en los niños, con sus características y diagnósticos mediante la aplicación de los métodos para detección. **Conclusiones:** Mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta se pueden reconocer los agentes etiológicos bacterianos y virales atípicos que afectan a los pacientes con afecciones respiratorias agudas.

Palabras clave: virus; bacterias; infecciones agudas; inmunofluorescencia indirecta

ABSTRACT

Introduction: One of the biggest public health problems in Ecuador caused by viruses and bacteria are respiratory tract diseases, occurring more frequently in children. **Objective:** To identify the incidence of viruses and bacteria that cause acute respiratory infections in children under 15 years of age with the application of indirect immunofluorescence technique. **Methodology:** A narrative bibliographic review was carried out, this search covered articles and research from the last 10 years, extracted from Scielo, Scopus, Pubmed and Latindex. Results: 32 documents related to the description of the viruses and bacteria that cause respiratory infections and the application of the indirect immunofluorescence technique were selected, taking into account the inclusion and exclusion criteria proposed. **Discussion:** The etiological agents of the common respiratory diseases in children, with their characteristics and diagnoses, were identified through the application of detection methods. **Conclusions:** By means of the indirect immunofluorescence technique, atypical bacterial and viral etiological agents that affect patients with acute respiratory diseases can be recognized. Keywords: virus; bacteria; acute infections; indirect immunofluorescence.

Keywords: virus; bacteria; acute infections; indirect immunofluorescence

1. Introducción

Las infecciones respiratorias agudas (IRA), forman un grupo de enfermedades que se producen en el aparato respiratorio, causadas por varios agentes tanto virales como bacterianos, cuyo inicio es insidioso y menor a dos semanas. (1). Las infecciones respiratorias, son uno de los principales motivos de consulta médica y la primera causa de prescripción de antimicrobianos, que en muchos casos conlleva al uso de fármacos de alto costo o uso prolongado debido al incremento de cepas resistentes frente a los antibióticos tradicionales. Estas infecciones son enfermedades muy frecuentes, responsables de un alto porcentaje de mortalidad a nivel mundial. (2)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la incidencia de las IRA ha ido en aumento en el mundo; en el año 2008 la incidencia anual fue de 156 millones de casos, siendo 43% lactantes o niños pequeños; en el año 2011, la estimación de la incidencia según la OMS fue de 450 millones de casos de IRA, que se asociaron con aproximadamente 4 millones de muertes, representando 7% de todas las muertes relacionadas con enfermedades. (3).

Esta realidad se acentúa principalmente en la población de los países no desarrollados, ya que en el 2013 el Instituto Nacional de Salud de Ecuador, indica que las infecciones respiratorias agudas fueron la tercera causa de muerte en los países de América Latina. (4) Se estima que se diagnostican aproximadamente 2.1 millones de casos de neumonía cada año en Argentina, Brasil y Chile. En Ecuador las IRA representan la primera causa de morbilidad con 45.7 % y la segunda en mortalidad con un 40 % en los menores de 5 años. (5) También, la Organización Mundial de la Salud, indica que en Perú, las infecciones respiratorias agudas presentan una alta mortalidad, constituyéndose en un problema de salud vigente ya que se presentaron más de 29 000 casos de neumonía, correspondiendo el 50% a la población infantil. (2,3).

La incidencia de los virus respiratorios en los últimos años, según el reporte de la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública han sido AH1N1, pmd09, AH3N2 e Influenza B.1, donde la com-

plicación más frecuente es la neumonía. En el caso de las neumonías bacterianas, el principal agente etiológico es el *Streptococcus pneumoniae*, no obstante, debido a la introducción de vacunas conjugadas y al uso de técnicas de biología molecular, los agentes etiológicos detectados han variado, lográndose identificar nuevos patógenos en las últimas décadas. (6).

Para contrarrestar los efectos y el alto porcentaje de mortalidad de las infecciones respiratorias agudas se aplican diversas técnicas para la detección de patologías provocados por virus y bacterias. Los avances en las tecnologías para el diagnóstico microbiológico y de biología molecular han permitido mejorar la descripción del cuadro clínico y aislar otros agentes infecciosos capaces de provocar enfermedades como la neumonía, así como la obtención de un mejor conocimiento de la enfermedad, y su detección temprana ya que de esta forma existen oportunidades para disminuir esta insidiosa enfermedad. (5, 6)

Entre las causantes de las IRA existen un grupo de bacterias con características microbiológicas y clínicas particulares, a las cuales se les conoce como agentes "atípicos", que incluyen: *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* y *Legionella pneumophila*, los cuales deben investigarse particularmente para lograr un diagnóstico oportuno y un tratamiento antibiótico adecuado. (7)

A partir del año 2009 con la aparición en Latinoamérica del nuevo virus de Influenza AH1N1 pmd09, crece la importancia de detectar su circulación en los periodos estacionales, con la finalidad de conocer su comportamiento epidemiológico, al igual que otros tipos virales. En un análisis ejecutado en el periodo 2011 a 2017 a partir del sistema de vigilancia centinela de infecciones respiratorias agudas graves (IRAG) del Hospital Provincial General Docente Riobamba del Ministerio de Salud Pública del Ecuador se observa que en el 74 % de los pacientes pediátricos no se ha logrado aislar otro agente etiológico, desconociendo la carga de enfermedad bacteriana de estos pacientes, no obstante los agentes virales de mayor circulación fueron: virus sincitial respiratorio, virus de la Influenza A/H1N1-2009 y virus de Influenza A/H3N2, en especial en niños de 1 a 4 años de edad y que

han presentado sintomatología respiratoria de gravedad con la consiguiente hospitalización. (2,5)

Durante muchos años la serología fue el método de diagnóstico para identificar los agentes bacterianos y virales atípicos, este se basa en la detección de anticuerpos IgM que por lo general aparecen entre 7 a 10 días posterior a la infección y anticuerpos IgG que se pueden encontrar aproximadamente luego de 3 semanas. (8) Sin embargo, aunque este método es efectivo, no proporciona un diagnóstico rápido, ya que requiere de procesos pre-analíticos para eliminar reactantes inespecíficos y su proceso no está automatizado. (9)

Actualmente para lograr un diagnóstico más eficiente en la población pediátrica con sintomatología respiratoria grave se emplea el método de inmunofluorescencia (IF), el cual consiste en el uso de sustancias fluorescentes, fluorocromos, que permiten detectar la presencia de un antígeno o anticuerpo en células o tejidos, presentando entre sus ventajas el rendimiento, la exactitud, la reducción del tiempo de respuesta, la trazabilidad, sensibilidad, especificidad y menor trabajo manual. (10).

A pesar del alto costo de los equipos y reactivos empleados en las técnicas de inmunodiagnóstico como es la inmunofluorescencia indirecta (IFI), es ampliamente usada en hospitales regionales y laboratorios en Ecuador, debido a su capacidad para procesar un alto número de muestras, simultáneamente, en un corto tiempo, esto determinará la carga de esta sintomatología respiratoria grave bacteriana en la población objeto de estudio, debido a que su falta de madurez inmunológica la hacen más susceptible a padecer esta enfermedad. (11). La rapidez de este diagnóstico permitirá conocer su comportamiento estacional, grupos de riesgo así como también la existencia de diferencias en las manifestaciones clínicas entre agentes bacterianos y virales. (12, 13) Los resultados del presente estudio contribuirá en el conocimiento científico de este tipo de eventos para mejorar el manejo clínico y terapéutico ante estos casos en el Hospital Provincial General Docente Riobamba.

2. Metodología

El análisis y la interpretación de la información en la que se sustenta el presente trabajo se obtuvo a través de una revisión bibliográfica no sistemática - narrativa de diferentes textos, documentos y artículos que contienen una descripción actualizada sobre el diagnóstico y tratamiento de las infecciones frecuentes de las vías respiratorias y que presentan el mayor índice de complicaciones en los pacientes afectados con dichas afecciones. Igualmente, la investigación abarco la búsqueda de información sobre los diferentes métodos existentes para la identificación de los agentes bacterianos y virales, haciendo énfasis en las técnicas de inmunodiagnóstico y específicamente en la inmunofluorescencia indirecta.

Para estas revisiones se emplearon las bases de datos: Scielo, Scopus, Pubmed y Latindex, utilizando para ello descriptores claves como: infecciones respiratorias agudas, bacterias atípicas, virus, neumonía, influenza, rinovirus, adenovirus e inmunofluorescencia indirecta en pacientes de edad no mayor de 15 años y con un límite temporal de 10 años, esta actividad permitió seleccionar la información más relevante para identificar los virus y las bacterias causantes de infecciones respiratorias agudas en la población objeto de estudio. La estrategia de búsqueda fue, mediante las siguientes palabras claves: Inmunoserología, infecciones respiratorias, inmunofluorescencia, métodos de inmunofluorescencia; en español y sus correspondientes términos en inglés: Immunoseology, respiratory infections, immunofluorescence, indirect immunofluorescence. Fueron incluidas las referencias que cumplieran con el principal objetivo de esta revisión, y excluidas las referencias que no se encontraban dentro del período y que no cumplieran los criterios elegibles para esta revisión.

3. Resultados

Se identificaron inicialmente 150 artículos escritos tanto en idioma inglés como español sobre los tópicos a investigar, de los cuales una vez clasificados y revisados sus resúmenes se seleccionaron 32 artículos que cumplieran con los siguientes criterios: a) ser relevantes y tener correspondencia con los tópicos de investigación, b) accesibilidad al artículo original, c) artículos de revisión bibliográfica, d) revisiones

sistemáticas y meta análisis de ensayos clínicos controlados, e) publicaciones entre 2009 y 2019. El resto de los documentos se utilizó para reforzar las temáticas de los artículos seleccionados.

4. Discusión

A continuación se describen las características, así como el manejo diagnóstico y terapéutico del grupo de infecciones de las vías respiratorias consideradas en esta investigación, se incluyen la conceptualización, principales síntomas, la etiología, el diagnóstico y posibles riesgos, todo ello basado en las evidencias encontradas en la literatura consultada.

4.1.- Agentes etiológicos.

Los agentes etiológicos de las neumonías en niños se pueden dividir en tres grupos: bacterias comunes (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Bordetella pertussis*, *Mycobacterium tuberculosis*, entre otros), virus respiratorios (VSR, Influenza A y B, Parainfluenza 1, 2 y 3, Adenovirus, Rhinovirus, Coronavirus, Metapneumovirus, Bocavirus, Enterovirus, Varicela, entre otros) y gérmenes atípicos (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii*, entre otros). (7,13, 14).

4.1.1.- Bacterias comunes.

Streptococcus pneumoniae

El neumococo o *S. pneumoniae* es un microorganismo patógeno causante de un gran número de infecciones entre las que tenemos (neumonía, bronquiolitis, sinusitis, entre otros) y de procesos invasivos severos (meningitis, sepsis, entre otros), específicamente en ancianos, niños y personas inmunocomprometidas. En los niños, los serotipos 6, 14, 19 y 23 son causa frecuente de neumonía. Las neumonías y otros procesos invasivos por *S. pneumoniae* siguen siendo causa de mortalidad y morbilidad grave en ambos extremos de la vida. (14)

Se ha establecido que en niños representa del 11-15% de todas de las neumonías, mientras que en pacientes hospitalizados puede alcanzar

del 37-44%. Este agente es un coco Gram positivo de 1.2 a 1.8 μm de longitud, presenta una forma oval y el extremo distal lanceolado. Poseen una capsula de polisacárido que permite la tipificación con antisueros específicos. Es inmóvil, no forma endosporas, y es miembro de la familia Streptococcaceae. Es un microorganismo anaerobio facultativo y catalasa negativo. (15).

Estas bacterias son residentes normales de las vías respiratorias altas en 5-40% de los seres humanos.

La virulencia de *S. pneumoniae* es atribuible principalmente a su capacidad para resistir la opsonización, fagocitosis y destrucción intracelular de las células fagocíticas, la cual está dada principalmente por su capsula de polisacárido. Existen al menos 90 tipos capsulares y 23 de estos se encuentran en más del 88% de las bacteriemias y meningitis por este germen. Como otros factores de virulencia están la neumolisina, proteína citotóxica que se acumula dentro de las células durante el crecimiento y es liberada con la lisis celular por la autolisina. Esta corresponde a una N-acetil-muramilo-L-alanina. (16)

Haemophilus influenzae

Haemophilus influenzae (Hi) es un cocobacilo Gram negativo, con apariencia pleomórfica, anaerobio facultativo y necesitan de un ambiente con 5 a 10% de CO₂ para su crecimiento. Pertenece a la familia Pasteurellaceae y la mayoría de las especies necesitan medios de cultivo enriquecidos para su crecimiento, los cuales tienen la presencia de factor X (hemina) y/o factor V (NAD). Es habitante habitual del árbol respiratorio del ser humano. *H. influenzae* pasa de un hospedero a otro por gotas de saliva y se adquiere poco después del nacimiento. Existen varios tipos, definidos por el antígeno capsular: a, b, c, d, e y f y cepas no tipificables (no encapsuladas). (14, 15, 16).

El tipo "b" es el más virulento y responsable de las enfermedades invasivas, generalmente cuando la cantidad de gérmenes que circulan en sangre alcanza altos niveles, es capaz de penetrar las meninges, articulaciones, pleura, pulmón y pericardio. La primera de estas

situaciones es la más frecuente. Aun con la terapéutica adecuada, la mortalidad es del 5% y las secuelas oscilan entre el 20-50%. (43). Se estima que H. influenzae tipo "b" (Hib), es responsable de unos tres millones de enfermedades graves y de unas 386.000 defunciones anuales, en su mayoría debidas a meningitis y neumonía. Casi todas las víctimas tienen menos de cinco años, y los más vulnerables son los niños entre 4 y 18 meses. (17).

En los países en desarrollo, en los que se concentran la mayor parte de las defunciones por Hib, la neumonía es responsable de más muertes que la meningitis. Aun así, la meningitis por Hib es también un problema grave en esos países, con tasas de mortalidad superiores a las de los países desarrollados; entre el 15 y el 35% de los sobrevivientes quedan con discapacidades permanentes como retraso mental o sordera. (16, 17, 18). La enfermedad invasiva por H. influenzae (meningitis, sepsis, epiglotitis, celulitis, neumonía, artritis, entre otras) se debe principalmente a cepas productoras de capsula polisacárida tipo b (Hib). Su incidencia ha disminuido en aquellos países en los que se ha introducido la vacuna conjugada de forma sistemática en el calendario de vacunación. (19).

La meningitis es una enfermedad de rápida evolución, la forma más común de esta afección es en forma viral y ocurre cuando un virus entra a través de la nariz o la boca y se traslada al cerebro produciendo una inflamación del tejido que rodea el cerebro y la médula espinal (20). En agosto del 2019 el Ministerio de Salud pública de Ecuador emitió una alerta por el aumento de casos de meningitis, indicando que las edades de los pacientes afectados están entre los 12 años y los 4 meses de edad, y entre los 40 y 65 años. De acuerdo con la información oficial el último caso se produjo en el año 2013, pero sin embargo en julio de este año la cifra se incrementó a 6 casos, incluyendo el fallecimiento de un paciente, esto representa un incremento del 600% de los casos de meningitis en nuestro país. (6)

4.1.2.- Virus respiratorios.

Virus Respiratorio Sincitial (VRS).

Es reconocido como el principal agente etiológico de la infección del tracto respiratorio bajo en lactantes y niños pequeños. (21). Este virus se clasifica dentro de la familia Paramixoviridae y el género Pneumovirus. La partícula viral es envuelta y más pequeña que el resto de los paramixovirus, la nucleocapside es de simetría helicoidal y posee como genoma ARN monocatenario de polaridad negativa, no segmentado y codifica para 10 proteínas. (22)

El espectro de trastornos respiratorios producidos por el VRS va desde un resfriado común en adultos, hasta cuadros de bronquiolitis en lactantes y neumonía en niños y adultos mayores. Este virus es el responsable del 40% de las bronquiolitis y del 25% de todas las neumonías virales, siendo en los lactantes el virus más frecuente en los seis primeros meses de edad, además que las reinfecciones por este germen suelen ser frecuentes. (23). El período de incubación de la enfermedad es de 4 a 5 días, sin embargo, la excreción viral puede durar hasta 3 semanas. La mortalidad es baja, pero si coexiste con una enfermedad preexistente, la mortalidad puede alcanzar hasta el 37%. (6, 24).

Un diagnóstico presuntivo de la infección por VRS en niños, debe estar basado en los síntomas clínicos, la edad y otros factores epidemiológicos, pero el diagnóstico definitivo depende del laboratorio y pudiera dividirse en dos aspectos fundamentales: detección del virus o de sus componentes y los métodos serológicos. (25)

Adenovirus.

Su nombre deriva del descubrimiento de la partícula viral en cultivos de células de adenoides, en el año 1953. Pertenecen a la familia Adenoviridae, géneros Mastadenovirus y Aviadenovirus; son virus desnudos (estable en el medio ambiente) de simetría icosaédrica, de 70-100 nm de diámetro, contiene DNA de doble cadena lineal como material genético y la capside se compone de 252 capsómeros, donde doce de ellos se ubican en los vértices formando las fibras que se relacionan con la adherencia a la célula blanco, mientras el resto de los capsómeros forman las paredes del icosaédro. (26)

La enfermedad respiratoria aguda se caracteriza por fiebre, tos, faringitis y adenitis cervical. Es agente importante de neumonías agudas tanto en adultos como en niños, dándose en este último grupo como la manifestación clínica más grave, por ser potencialmente fatal. (26,27). La infección respiratoria aguda por Adenovirus no difiere inicialmente de la que causan otros virus, especialmente el VRS, aunque determina mayor frecuencia de neumonía con consolidaciones en el parenquima pulmonar, los síntomas catarrales son menos importantes. Se han descrito las secuelas de daño pulmonar residual importante como bronquiectasias y bronquiolitis obliterante (17,20,28).

Rhinovirus

Los Rhinovirus humanos (RVH) son los agentes causales más frecuentes de resfriado común, también están asociados con otitis media aguda en niños y sinusitis en adultos. Estos virus, descubiertos en 1956, pertenecen a la familia Picornaviridae, género Enterovirus. Poseen un genoma ARN de cadena simple de 7.2 kb, de polaridad positiva con un único marco de lectura. (29). Es desnudo y de simetría icosaédrica, su capsida está compuesta de 60 capsómeros cada uno de los cuales presenta 4 proteínas estructurales con capacidad antigénica inestable (se comportan como antígeno de grupo específico); estas proteínas son: VP 1 (actúa como sitio de fijación de anticuerpo), VP 2 (Es un Porro), VP 3 (sitio de fijación para AC) y VP 4 (Acompaña al ARN viral). Actualmente, existen descritos más de 100 serotipos clasificados en tres especies: A, B y C. (17,30).

Parainfluenzae

Los virus Parainfluenza del ser humano (VPIh) pertenecen a la familia Paramixoviridae, al igual que el VRS y el Metapneumovirus. Son de simetría helicoidal con un diámetro de 100-200 nm, son envueltos y tienen como genoma ARN de cadena simple, lineal de polaridad negativa y no segmentado. Contienen aproximadamente 15 000 nucleótidos y se han descrito cinco tipos: 1, 2, 3, 4a y 4b, de los cuales los serotipos 1, 2 y 3 son los más importantes desde el punto de vista médico, ya que ocupan el segundo lugar dentro de las causas de infecciones respiratorias severas en lactantes y niños pequeños,

solo superados por el VRS. (31).

Los VPIh provocan infecciones respiratorias frecuentes y de gravedad variable, donde las manifestaciones clínicas dependen específicamente del serotipo; sin embargo, también es importante la edad del paciente, el estado inmune y el momento epidemiológico del año. Los niños con infección primaria por VPIh de los tipos 1, 2 y 3 pueden presentar cuadros clínicos graves, que varían desde laringotraqueitis y crup (particularmente los tipos 1 y 2), hasta bronquitis y neumonía; sobre todo con el tipo 3, el cual produce enfermedad grave en lactantes menores de 6 meses. Estudios serológicos han demostrado que el 60% de los niños a la edad de dos años ya han sido infectados con VPIh tipo 3 y que aproximadamente el 80% ha sido infectado a los 4 años de edad, la mayoría asintomáticos. (29, 30, 31).

Influenza

El virus Influenza causa frecuentemente infección respiratoria en los distintos grupos etarios de la población humana en todo el mundo. Puede llevar a enfermedad grave e incluso letal en lactantes, ancianos y pacientes inmunocomprometidos. Pertenecen a la familia Orthomyxoviridae y posee tres géneros A, B y C; formados por los virus influenza A, B y C, respectivamente. La partícula viral tiene un diámetro de 50-120 nm, es envuelta y su manto corresponde a una bicapa lipídica derivada de la membrana celular de la célula huésped que infecta, de ella sobresalen alrededor de 500 espículas conformadas por las glicoproteínas hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA). (21,27).

El virus Influenza A es capaz de producir enfermedad en humanos, equinos, porcinos, focas y aves. Los B y C solo se asocian a enfermedades humanas, aunque se han detectado casos aislados en animales. La infección se disemina por vía aérea a través de aerosoles o por contacto a través de las manos u objetos contaminados. El periodo de incubación es corto, de horas a 4 días. (21,22).

El cuadro clínico clásico se caracteriza, en adultos y adolescentes, por inicio brusco, con fiebre alta (38-40 °C) y acompañado de mialgias, cefalea, escalofríos, decaimiento, malestar ge-

neral y fotofobia. Posterior al inicio de la fiebre, aparece obstrucción nasal, tos no productiva, disfagia, faringitis y rinitis; mientras que en los niños pequeños pueden presentar fiebre alta (generalmente $> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), con grados variables de compromiso del estado general, rinitis, cefalea y odinofagia. Los menores de 5 años presentan particularmente anorexia y síntomas gastrointestinales como vómitos y diarrea. En los recién nacidos el cuadro clínico es muy inespecífico, con fiebre alta, letargia, rechazo alimentario, piel moteada y apneas. (32).

4.1.3.- Gérmenes atípicos.

Mycoplasma pneumoniae

Los mico plasmas son bacterias pequeñas y pleomorfas, pertenecen a la familia Mycoplasmataceae, en la actualidad se sabe que han evolucionado de ancestros Gram positivos tipo Clostridios. Durante su evolución han perdido la pared celular rígida, por lo que difieren de otras bacterias y no es posible visualizarlas al microscopio con coloración de Gram, por lo cual no responden al tratamiento con β -lactámico. La supervivencia de *M. pneumoniae* inicialmente depende de la citoadherencia al epitelio respiratorio del huésped. Después de la adhesión, se multiplica con el fin de establecer una infección, que implica colonización e inflamación adicional de otros tejidos.(15,27)

Estos gérmenes actúan localmente causando destrucción tisular y parece producir la mayoría de sus cambios fisiológicos y citológicos mientras permanece en el espacio extracelular. La parálisis de los cilios respiratorios, otra consecuencia de la infección por este microorganismo, podría explicar la tos irritante que frecuentemente persiste por días o semanas después de la recuperación de la enfermedad aguda. (25, 27).

La infección por este germen muestra una variedad de manifestaciones clínicas, que van desde

la infección asintomática hasta neumonía letal pudiendo tener manifestaciones extra pulmonares. La neumonía por este agente ha sido reportada en 10 a 40% de los casos de NAC, y los niños son el grupo más susceptible (13). Sin

embargo, la proporción de casos aumenta significativamente durante el verano en países con clima templado, debido a una menor incidencia de otros patógenos. Casi todas las infecciones causadas por *M. pneumoniae* son relativamente leves e incluyen faringitis, traqueo bronquitis, bronquiolitis y crup. Las manifestaciones clínicas se desarrollan gradualmente, en un periodo de varios días. (21,22).

Chlamydia pneumoniae

Es una bacteria pequeña con estructura similar a las bacterias Gram negativas, pertenece a la familia Chlamydiaceae, intracelular obligado de células de mamíferos y aves. Pertenecen al grupo de patógenos llamados "atípicas". Posee un ciclo de vida único en el que se distinguen dos formas, el cuerpo elemental metabólicamente inactivo, con capacidad infectante que puede encontrarse extracelularmente y el cuerpo reticular metabólicamente activo, intracelular. (13,29).

Se ha demostrado que la infección por *Ch. pneumoniae* se encuentra distribuida en todos los grupos de edad y zonas geográficas. Debido a la dificultad de establecer una estrategia diagnóstica eficaz, las estimaciones de la frecuencia de este microorganismo en NAC varían de 0 a 44%. Este agente puede diseminarse entre las familias y los grupos sociales cercanos. (28, 29)

En los adultos, estos patógenos se asocian comúnmente con síntomas no respiratorios y con enfermedad pulmonar bilateral, en comparación con la presentación clásica de la neumonía lobar neumocócica; además, de la infección asintomática, la presentación clínica habitual de la infección por *Ch.pneumoniae* es significativa en los niños y cursa con neumonía leve indistinguible de las causadas por otros organismos. No parece causar "neumonía atípica", como en los adultos. La enfermedad grave y el derrame pleural son raros en niños inmunocompetentes. La infección por *Ch. pneumoniae* puede ser responsable de hasta 20% de las presentaciones con el síndrome torácico agudo en niños con anemia falciforme. (24,25).

Ha sido difícil esclarecer el papel de la infección por *Ch. pneumoniae* en la enfermedad aguda de las vías respiratorias inferiores, muchos es-

tudios por métodos serológicos o métodos directos han identificado en el contexto de la enfermedad asociación con otro patógeno respiratorio. (32) Para el diagnóstico de esta afección, las pruebas serológicas medidas diagnósticas muy útiles, pero frecuentemente proporcionan información retrospectiva de la infección aguda, porque el espécimen de suero convaleciente debe expresar seroconversión. Las pruebas inmunoenzimáticas han sido ampliamente utilizadas para la detección de infecciones por *Ch. pneumoniae* ya que poseen una mayor sensibilidad y especificidad, siendo las pruebas de microinmunofluorescencia las utilizadas ya que permiten la medición de anticuerpos IgM e IgG con más precisión y efectividad. (29).

Legionella pneumophila.

Es una bacteria Gram negativa con forma de bacilo, con requerimientos de crecimiento estrictos y que infecta a los seres humanos cuando se exponen a fuentes de aguas contaminadas. Se encuentra en aguas estancadas a elevada temperatura y su crecimiento se ve favorecido por la presencia de materia orgánica, requiere oxígeno para respirar y se han identificado 16 serogrupos de *L. pneumophila*. Los métodos directos de diagnóstico incluyen el cultivo, inmunofluorescencia directa y detección de antígenos en la orina, los dos primeros aportan baja y variable sensibilidad y el último a pesar de detectar un número limitado de serogrupos, permite un diagnóstico temprano de la *L. pneumophila*. (25, 26).

Tiene un periodo de incubación de 2 a 14 días. *L. pneumophila* serogrupo 1 es la especie con mayor virulencia. La bacteria se adhiere a la célula huésped, donde se multiplica en forma intracelular. Factores de virulencia incluyen varias citocinas, proteínas de shock caliente, fosfolipasas, lipopolisacáridos, que se asocian con absorción de hierro, metaloproteasas y beta lactamasas. Rara en niños, su incidencia exacta es desconocida, se le atribuyen el 2 a 9% de las NAC, aunque se piensa que existe un subdiagnóstico de la enfermedad. Existe variación estacional, 62% de los casos se produce en verano y a principios de otoño. (13, 17, 20)

L. pneumophila causa síntomas variables. La

neumonía puede tener presentación clínica similar a la neumonía por *Streptococcus pneumoniae*. Puede existir un pródromo manifestado por cefalea, mialgias, astenia y anorexia. La fiebre es frecuente, aunque puede estar ausente en inmunocomprometidos. Además se describen síntomas gastrointestinales como diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal y síntomas neurológicos que pueden llegar a obnubilación, convulsiones y síntomas de focalización. (29,32)

En pacientes inmunocomprometidos la neumonía es la presentación clínica habitual de esta bacteria, presentando una alta mortalidad. En una pequeña proporción de casos se han descrito síntomas extra pulmonares como esplenomegalia, ruptura esplénica, pericarditis, miocarditis, endocarditis, infecciones de heridas, artritis e infecciones de sistema nervioso central. Su otra presentación clínica es una enfermedad febril, llamada fiebre Pontiac, sin neumonía, generalmente benigna, los pacientes con esta patología presentan un cuadro clínico similar al de la gripe. (13,32)

Coxiella burnetii

La bacteria *C. burnetii* es la responsable de la fiebre Q, zoonosis de distribución mundial. La fiebre Q es una enfermedad sistémica que puede producir neumonía atípica, síndrome febril, hepatitis o endocarditis. Puede infectar un amplio rango de animales, además de numerosas especies de garrapatas. Generalmente los humanos adquieren la fiebre Q al inhalar aerosoles o polvo contaminados.

Los tres tipos principales de síntomas de la fiebre Q aguda incluyen: síndrome pseudo gripal, neumonía y hepatitis. La neumonía se puede presentar hasta en una tercera parte de los individuos y la mayoría de los casos son relativamente leves. La fiebre Q crónica se desarrolla en individuos que han estado infectados durante más de seis meses sin un tratamiento efectivo y su principal signo es la infección de las válvulas del corazón o endocarditis. Otras características menos comunes de la fiebre Q crónica son la cirrosis y la cicatrización pulmonar (fibrosis pulmonar intersticial). (13,18)

Durante la fase aguda se detectan anticuerpos IgM, que aparecen en la segunda semana de enfermedad y desaparecen a partir del cuarto mes. A las 4-8 semanas del inicio de la enfermedad se detecta el máximo nivel de anticuerpos IgG. En aquellos casos de fiebre aguda en que se detecten anticuerpos IgG a título elevado, es muy probable encontrar también IgM. En los casos crónicos de enfermedad (endocarditis) no está presente la IgM. El diagnóstico de la fiebre Q está basado en los métodos serológicos debido a que el aislamiento de muestras clínicas es difícil.(24).

La *C. burnetii* presenta dos formas antigénicas de gran utilidad en el diagnóstico de la fiebre Q: el antígeno de fase I (microorganismos virulentos con LPS liso) y el de fase II (microorganismos avirulentos con LPS rugoso). La determinación del nivel de anticuerpos frente a cada uno de estos antígenos puede ayudar a diferenciar la fiebre Q aguda de la crónica. En los pacientes en fase aguda, los títulos frente a fase II son superiores a los títulos frente a fase I, mientras que en los crónicos ocurre lo contrario; en los pacientes crónicos de fiebre Q que presentan endocarditis, los niveles de IgA sérica pueden estar muy elevados. (13,28)

4.2.- Método de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

Actualmente el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes se realiza a través de un gran número de técnicas que permiten identificar y confirmar los antígenos más comunes presentes en pacientes con infecciones respiratorias agudas. Entre las técnicas más utilizadas se encuentran: la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el ensayo inmunoenzimático (ELISA), el ensayo múltiple y la electroinmunotransferencia. (29).

La IFI, es uno de los métodos más empleados en los estudios de autoinmunidad, debido a su fácil manejo y estandarización, esta técnica se basa en la detección de los anticuerpos que reconocen estructuras antigénicas celulares nativas. En la inmunofluorescencia indirecta inicialmente los anticuerpos específicos no marcados se unen al antígeno y, en una segunda etapa, se agrega el anticuerpo marcado como fluorocromo. Los resultados del reconocimiento de los antígenos

por los autoanticuerpos presentes en el suero plasma o cualquier otro líquido se evalúan en un microscopio de epifluorescencia. La detección precisa del agente causal es importante para orientar los cuidados, prevenir su propagación nosocomial, disminuir los costos hospitalarios y la duración de la estadía hospitalaria, como también proporcionar vigilancia no tan sólo en pacientes puntuales, sino que también como una herramienta para la vigilancia epidemiológica de virus respiratorios.(28)

El método de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), se basa en la reacción de los anticuerpos en la muestra, probados con el antígeno adsorbido en la superficie del deslizamiento. Los anticuerpos específicos presentes en la muestra reaccionan con el antígeno y las inmunoglobulinas no unidas al antígeno se eliminan en la etapa de lavado. Posteriormente, los complejos antígeno-anticuerpo reaccionan con la globulina antihumana marcada con fluoresceína. Se puede examinar usando un microscopio de inmunofluorescencia. (29)

La mayoría de los laboratorios emplean la inmunofluorescencia indirecta (IFI), para el diagnóstico serológico, ya que esta prueba tiene buena sensibilidad y especificidad. La IFI se emplea con más frecuencia cuando existen limitaciones de equipamiento o espacio, o cuando el número de muestras es pequeño. Tiene la ventaja añadida de permitir emplear simultáneamente antígenos de fase I y II, por lo tanto, es fácil de realizar por su proceso automatizado, y resulta muy útil en estudios seroepidemiológicos. (24,30).

El procedimiento que se sigue en esta técnica presenta 4 pasos fundamentales: La Fijación, permite preservar la localización, composición y estructura del material biológico. La Permeabilización se realiza para producir poros en las membranas celulares permitiendo el ingreso de los anticuerpos a la célula. El Bloqueo tiene como objetivo impedir interacciones inespecíficas de los anticuerpos con el material biológico a analizar y de esta manera reducir la marcación inespecífica. Y por último, la Inmunodetección que consiste en utilizar el microscopio de fluorescencia para mediante la coloración, diferenciar los dos tipos de reacciones de las muestras: positiva o negativa. (32).

La reacción es positiva cuando se observa fluorescencia nuclear y citoplasmática de verde manzana en el 20-25% de las células para sueros positivos a: adenovirus, influenza, VSR o parainfluenza; fluorescencia verde manzana en todas las bacterias en el caso de Legionella, Chlamydomphila o Coxiella; se puede observar fluorescencia verde manzana en la periferia de la célula para obtener sueros positivos para Mycoplasma. (31).

Una reacción es negativa se produce cuando no se observa fluorescencia para Legionella, Chlamydomphila y Coxiella y patrón celular rojo para Mycoplasma, adenovirus, influenza A y B, VSR y parainfluenza. La presencia de fluorescencia en todas las células o en el pozo 10 implica la presencia de anticuerpos antinucleares o anti celulares y el resultado no debe considerarse como positivo, entonces se requiere una técnica alternativa. Como los anticuerpos con reactividad cruzada se encuentran con frecuencia en pacientes con infección por Legionella ya que no hay una gran experiencia en la detección de IgM, estos resultados deben evaluarse cuidadosamente considerando la sintomatología y los resultados de IgM. Debido a estas razones, en estas situaciones se recomienda estudiar diluciones más altas para aumentar el valor predictivo positivo de la prueba. (29,32).

Por lo antes descrito, el método de diagnóstico rápido recomendado para la detección de virus respiratorios es la inmunofluorescencia indirecta (IFI), esta técnica es ampliamente utilizada debido a su tiempo de respuesta, sencillez, bajo costo, buena especificidad y sensibilidad, permitiendo identificar los agentes virales sincial (VRS), influenza, parainfluenza y adenovirus. La identificación rápida de los agentes etiológicos virales resulta indispensable para el monitoreo epidemiológico de esta patología, ya que brinda la posibilidad de disminuir el uso innecesario de antibióticos y por ende la resistencia bacteriana en una de las poblaciones más susceptibles a estas infecciones como son los niños, ya que aún no han desarrollado un grado de madurez inmunológica que les permita contrarrestar estos virus.

5.Conclusiones

Los patógenos atípicos son responsables del 30-40% de los casos de neumonía y pueden ser copatogenos en otros casos. Sin embargo, incluso conociendo algunas de las características comunes de las infecciones causadas por estos microorganismos, determinar el agente específico en base un diagnóstico clínico, radiológico y de laboratorio es muy difícil y normalmente se hace retrospectivamente. Por lo que los métodos indirectos como la inmunofluorescencia indirecta pueden establecer un diagnóstico clínico en ausencia de aislamiento de virus a partir de la muestra o de detección de sus antígenos o ácidos nucleicos.

En este sentido, los virus respiratorios, principalmente el VRS es el germen más importantes como agente etiológico de Neumonías Adquiridas en la Comunidad entre los lactantes. Las bacterias más frecuentemente identificadas son: Streptococcus pneumoniae y Mycoplasma pneumoniae. Debido a la vacunación masiva contra Haemophilus influenzae, se ha modificado su frecuencia en los últimos años. La vigilancia epidemiológica de la etiología de NAC en la población pediátrica se hace imperativa, para poder ajustar las directrices en cuanto a diagnóstico, tratamiento y medidas de control se refiere.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración prestada al equipo de salud conformado para esta investigación, por su apoyo y paciencia que han permitido el desarrollo de la misma.

Declaración de conflicto de interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés con las organizaciones e instituciones sobre la obtención y veracidad de la información relacionada con los tópicos tratados en el presente trabajo.

Limitación de responsabilidad

Las opiniones expresadas en el este artículo son de entera responsabilidad de los autores.

Fuentes de apoyo

Para la realización de esta investigación no se contó con fuentes de financiamiento externo, la misma fue autofinanciada por la autora.

Referencias Bibliográficas

1. Rudan I, Boschi-Pinto C, Biloglav Z, Mulholland K and Campbell H. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. Bull World Health Org 2008; 86 (5): 408-16. PMID: PMC2647437.
2. Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn J E, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000-13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. Lancet 2015; 385 (9966): 430-40. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61698-6.
3. MSP: Ministerio de salud Pública (Internet). Ecuador: MSP 2019 (citado 14-10- 2019). Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Subsecretaría Nacional de Vigilancia de la salud Pública. Influenza actualización epidemiológica SE 49, 2017 – SE 06, 2019. Disponible en: <http://www.msp.gob.ec>
4. Organización Mundial de la Salud. La salud y los objetivos de desarrollo del milenio. 2005. 3-81 p.
5. González M. NEUMONIA: Principal causa de morbilidad. La inmunización a menores de cinco años en los hogares del Ecuador al año 2012. Análisis Rev. Coyunt. 2012. (Octava Edición):21.
6. MSP: Ministerio de Salud Pública (Internet). Ecuador: MSP 2011. Dirección General De Salud Dirección De Control y Mejoramiento de la Salud Pública Programa Ampliado De Inmunizaciones. Sub-Sistema De Vigilancia De Infecciones Respiratorias Agudas Graves. Norma y Protocolos. 2011. Disponible en: <http://www.msp.gob.ec>
7. Reiman H.A. An acute infection of the respiratory tract with atypical pneumonia. A disease entity probably caused by a filterable virus. JAMA (Internet). 1938. 111: 2377-2384.
8. Eaton MD, Meiklejohn G, Van Herick W. Studies on the etiology of primary atypical pneumonia. A filterable agent transmissible to cotton rats, hamsters, and chick embryos. J Exp Med (Internet). 1944. 79: 649-668.
9. T Prescott Atkinson, Ken B. Waites. Mycoplasma pneumonia infections in childhood. The Pediatric Infectious Disease Journal 2014; 33: 92-94.
10. Rudan I, Boschi-Pinto C, Biloglav Z, Mulholland K, Campbell H. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. Bull World Health Organ. 2008; 86(5):408– 16.
11. Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000– 13, with projections to inform post- 2015 priorities: an updated systematic analysis. Lancet. Elsevier; 2015 Jan; 385(9966):430– 40.
12. Pui-Ying Iroh Tam. Approach to common bacterial infections: Community-acquired pneumonia. Pediatric Clin N Am (Internet). 2013. 60: 437-453
13. Bermúdez F, et al. Detección de anticuerpos contra agentes virales y bacterias atípicas en el suero de pacientes con infección respiratoria, Estado Zulia-Venezuela, periodo 2005 – 2010. Kasma. 2014. Vol. 42: 2
14. Reyes, A., Beltrán, P., & Astudillo, J. Prevalencia de Infecciones Respiratorias Agudas en Pacientes menores de 5 años y su Asociación con desnutrición. Jadán, Enero – Diciembre 2014. Revista Médica HJCA, 7(2), 1–6. <https://doi.org/http://dx.doi.org-g/10.14410/2015.7.2.ao.2>

15. Astudillo, J., & García, G. Factores asociados a Infecciones Respiratorias Agudas en niños menores de 5 años que acuden a un Centro de Salud de la ciudad de Guayaquil de Octubre del 2016 a febrero del 2017. Guayaquil - Ecuador.
16. De Castro A, Mims L, Hueston WJ, Rhinosinusitis. Vol. 41, Primary Care-Clinics in Office Practice. Elsevier; 2014. P. 47-61.
- 17.- Graciani Noriega D, Ampuero López A. Infecciones agudas traqueales y del árbol bronquial. Med – Programa From medica Contin Acreditado. Octubre 2018; 12(64): 3741 – 50.
- 18.Chanock RM. Mycoplasma pneumoniae: proposed nomenclature for atypical pneumonia organism (Eaton agent). Science 1963; 140 (3567): 662.
19. UNICEF. Limpiar el aire para los niños. Resumen Ejecutivo, 1–8. 2016. Retrieved from https://www.unicef.org/publications/files/Clear_the_Air_for_Children_Executive_summary_SP.pdf
20. Saldarriaga, E., Valderrama, J. Programa Nacional de Prevención, manejo y Control de la Infección Respiratoria Aguda en Colombia. Ministerio de Salud Y Protección Social Bogotá D.C. Colombia, Diciembre de 2014, 1, 1–79. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
21. Ruskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch D R. Viral pneumonia. Lancet 2011; 377 (9773): 1264-75. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61459-6.
22. Chang HY, Chang LY, Shao PL et al. Comparison of real-time polymerase chain reaction and serological tests for the confirmation of Mycoplasma pneumoniae infection in children with clinical diagnosis of atypical pneumonia. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2014; 47:137-144.
23. Gates A, Gates M, Vandermeer B, Johnson C, Hartling L, Johnson DW, et al. Glucocorticoids for croup in children. Cochrane Database Syst Rev. 29 October de 2018.
- 24.- Brittain-Long R, Nord S, Olofsson S, Westin J, Anderson LM, Lindh M. Multiplex real-time PCR for detection of respiratory tract infections. J Clin Virol. 2008; 41: 53-6.
25. Calvo C, Pozo F, García-García ML, Sánchez M, López-Valero M, Pérez-Breña P, et al. Detection of new respiratory viruses in infants hospitalized with bronchiolitis. A three year prospective study. Acta Paediatr. 2010; 99(6): 883-7.
26. Flores C, Méndez M, Astudillo C, Cerda H, Espinoza T, Montes S, et al. Infección por adenovirus en hospital de niños con enfermedades respiratorias crónicas. Rev. Chil Pediatr 2013; 84 (5): 522-6. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v84n5/art06.pdf>
27. Principi N. Role of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in children with community-acquired lower respiratory tract infections. CID 2009; 32:1281-9.
28. Ruskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch D R. Viral pneumonia. Lancet 2011; 377 (9773): 1264-75. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61459-6.
29. Chartrand C, Leeflang M G, Minion J, Brewer T, Pai M. Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: a meta-analysis, Ann Intern Med 2012; 156: 500-11. DOI: 10.7326/0003-4819-156-7-201204030-00403.
30. Campanini G, Percivalle E, Baldanti F, Rovida F, Bertaina A, Marchi A, et al. Human respiratory syncytial virus (hRSV) RNA quantification in nasopharyngeal secretions identifies the hRSV etiologic role in acute respiratory tract infections of hospitalized infants. J Clin Virol 2007; 39 (2): 119-24. DOI: 10.1016/j.jcv.2007.03.009.



31. Fuenzalida L, Fabrega J, Blanco S, Del Mar Martínez M, Prat C, Pérez M, et al. Usefulness of two new methods for diagnosing metapneumovirus infections in children. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16 (11): 1663-8. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03192.x.
32. Duchamp M B, Casalegno J S, Gillet Y, Frobert E, Bernard E, Escuret V, et al. Pandemic A (H1N1) 2009 influenza virus detection by real time RT-PCR: is viral quantification useful? *Clin Microbiol Infect* 2010; 16 (4): 317-21. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03169.x.
33. Gharabaghi F, Tellier R, Cheung R Collins C, Broukhanski G, Drews SJ, et al. Comparison of a commercial qualitative real-time RT-PCR kit with direct immunofluorescence assay (DFA) and cell culture for detection of influenza A and B in children. *J Clin Virol* 2008; 42: 190-3. DOI: 10.1016/j.jcv.2008.01.013.