

Artículo original

Circulación de virus respiratorios luego de la emergencia de SARS-COV-2

Circulation of respiratory viruses after the emergency of SARS-COV-2

Graciela Cabral^{1,2}, Gabriela Jurado^{1,2}, Ignacio Gallo^{1,2}, Lara Ferrario² y Paula Sepulveda^{1,2}

¹Hospital Prof. Alejandro Posadas. Av. Pte. Illia s/n, (1684) El Palomar, Buenos Aires Argentina.

²Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Morón. Machado 854, (1708) Morón, Prov. de Buenos Aires, Argentina.

Manuscrito recibido: 17 de mayo de 2024; aceptado para publicación: 27 de octubre de 2024

Autor de Contacto: Dra. Graciela Cabral. Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Morón. Machado 854, (1708) Morón, Prov. de Buenos Aires, Argentina. E-mail: gracielacabral@yahoo.com.ar

Resumen

Las infecciones respiratorias agudas virales (IRA) representan una importante causa de morbimortalidad. La posibilidad de diagnóstico de los virus responsables a través de técnicas moleculares modificó los conocimientos epidemiológicos. Los objetivos del estudio fueron determinar la etiología de IRA virales por RT-PCR en tiempo real, comparar los patrones de circulación viral antes durante y después de la emergencia de SARS-CoV-2 y asociar edad, sexo, presentación clínica e indicadores de gravedad con la detección viral y las codetecciones. El aislamiento y distanciamiento social implementado contra COVID-19 tuvo diferentes impactos en los virus respiratorios. Se mantuvo la detección de Rinovirus y Adenovirus durante la aplicación de las medidas, no así de otros agentes virales. Se observaron cambios en los patrones de circulación viral durante y después de la pandemia comparada con años prepandémicos. Se verificó la circulación de Bocavirus y Coronavirus de baja patogenicidad en nuestro medio en todos los años estudiados y se resignificó el diagnóstico de Rinovirus como patógeno importante en la internación.

Palabras clave: infección respiratoria aguda, virus respiratorios, SARS-COV2, PCR en tiempo real.

Abstract

Viral acute respiratory infections (ARI) represent an important cause of morbidity and mortality. The possibility of diagnosing the responsible viruses through molecular techniques modified epidemiological knowledge. The objectives of the study were to determine the etiology of viral ARI by real-time RT-PCR, compare the viral circulation patterns before, during and after the emergence of SARS-CoV-2 and associate age, sex, clinical presentation and severity indicators with viral detection and co-detections. The isolation and social distancing implemented against COVID-19 had different impacts on respiratory viruses. The detection of Rhinovirus and Adenovirus was maintained during the application of the measures, but not of other viral agents. Changes in viral circulation patterns were observed during and after the pandemic compared to pre-pandemic years. The circulation of Bocavirus and Coronavirus of low pathogenicity was verified in our environment in all the years studied and the diagnosis of Rhinovirus was redefined as an important pathogen in hospitalization.

Keywords: *acute respiratory infection, respiratory viruses, SARS-COV2, real-time PCR.*

DOI: <http://doi.org/10.34073/391>

Introducción

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) representan una importante causa de morbimortalidad en nuestro medio (Moreno et al., 2021). Según OMS anualmente causan 3 a 5 millones de casos graves y 290.000 a 650.000 muertes. Ocurren principalmente en niños y bebés, que pueden experimentar hasta cinco a seis episodios en un año (Berry et al., 2015).

Estudios locales confirman que durante los primeros años de la vida se producen la mayoría de las IRA y que los virus respiratorios son los principales agentes etiológicos (90%) relacionados tanto con bronquiolitis (BQL) como con neumonía (NMN) en menores de 2 años de edad (Actualización 2021. Arch Argent Pediatr), y con síndrome bronco obstructivo (SBO) en niños mayores. Los virus principalmente asociados con las IRA son: adenovirus (ADV), virus de la parainfluenza (PIV 1-4), virus respiratorio sincitial (RSV), metapneumovirus (MPV) y el virus de la influenza (FLUA y FLUB) que causa una morbilidad considerable y mortalidad en todo el mundo a pesar de la disponibilidad de vacunas contra la gripe (Jeon et al., 2019). Estos 7 virus mencionados se estudian desde los años 90 por métodos convencionales como inmunofluorescencia directa (IFD). (Jartti et al., 2013). En los últimos años, nuevos virus emergentes como rinovirus (RV) (Bergroth et al., 2020), bocavirus (BoV), y cuatro nuevos coronavirus humanos (COV) han sido involucrados en infecciones respiratorias agudas (Berry et al., 2015; Schuster et al., 2018; De Conto et al., 2019). La posibilidad de diagnóstico de este último grupo al surgir las técnicas moleculares modificó los conocimientos epidemiológicos de las infecciones respiratorias. (Jartti et al., 2013; Marcone et al 2013; Mengellea et al., 2014; Marcone et al 2015; Orqueda 2021). Los virus respiratorios tienen un patrón estacional de circulación, algunos endémicos y otros epidémico con picos invernales (Miyu et al., 2020).

Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos de alta

sensibilidad (NAAT) se han desarrollado permitiendo un diagnóstico rápido y preciso para ayudar al conocimiento de la epidemiología, seguimiento, adopción de medidas de prevención eficaces, así como la implementación de terapias antivirales apropiadas (Das et al., 2018).

En diciembre de 2019, la existencia de pacientes con neumonía de una etiología desconocida fue informada a la OMS por las autoridades nacionales en China. El agente causal se identificó oficialmente como síndrome respiratorio agudo grave del coronavirus 2 (SARS-CoV-2).

Argentina implementó estrictas intervenciones no farmacéuticas (INF) como Aislamiento Social Obligatorio y Preventivo (ASOP) en marzo de 2020. Estas medidas se fueron relajando pasando en junio de 2020 a Distanciamiento Social Obligatorio y Preventivo (DiSOP) hasta que en agosto del 2021 se decide el regreso a la presencialidad escolar. En este nuevo contexto se desconoce el patrón de circulación de los virus respiratorios, así como la severidad de las coinfecciones con SARS-CoV-2. La identificación de los agentes virales de las IRA incluyendo SARS-CoV-2 tanto en infecciones simples como coinfecciones puede ayudar a comprender los diversos síntomas clínicos, la larga duración, los efectos sobre la salud y el uso de métodos adecuados de prevención.

El propósito principal del estudio es determinar la etiología de IRA virales por RT-PCR en tiempo real (RT-PCR-TR) y comparar los patrones de circulación viral antes durante y después de la emergencia de SARS-CoV-2 en un Hospital de Alta Complejidad de la Provincia de Buenos Aires.

Son objetivos secundarios asociar edad, sexo, y presentación clínica con la detección viral y relacionar indicadores de gravedad como requerimiento de UCI y O2, días de internación con las codetecciones.

Material y Métodos

Se estudiaron muestras de niños de 0 a 5 años internados con síntomas respiratorios. Los datos clínicos y epidemiológicos

gicos fueron obtenidos de las bases de datos elaboradas en el Laboratorio de Virología, con las fichas que acompañan las muestras y los sistemas OMEGA, INFINITY y SISA

Se analizaron muestras respiratorias que incluyeron: hisopados, aspirados nasofaríngeos y aspirados traqueales obtenidos con solución fisiológica y conservados a 2–8 C hasta su transporte en condiciones de bioseguridad al Laboratorio de Virología, donde fueron inmediatamente analizadas o refrigeradas hasta su procesamiento.

Criterios de Inclusión: Todas las muestras de pacientes entre 0 y 5 años internados con síntomas respiratorios y solicitud de prueba de laboratorio de sus médicos. En esta solicitud consta el consentimiento de los tutores para el análisis.

Criterios de Exclusión: muestras escasas, mal remitidas, o con solicitudes sin datos completos. Las muestras repetidas dentro de los 7 días con el mismo resultado no fueron consideradas por corresponder al mismo episodio.

El ARN/ADN viral se extrajo mediante sistema automatizado con perlas magnéticas MGI. Los extractos se analizaron utilizando ensayos de RT-PCR-TR multiplex marca VIASURE para identificar FLUA, FLUB, ADV, HMPV, PIV1-4, RV, RSV,

OC43, HKU1, NL63, 229E y BOV. Para SARS-CoV-2 se utilizó el kit Discovery SARS-CoV-2 Nucleic acid detection Kit. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes.

Los resultados de los coronavirus de baja patogenicidad (OC43, HKU1, NL63, 229E) y BOV no fueron considerados en el análisis inicial por su baja frecuencia.

Análisis estadístico:

Las variables categóricas se expresaron como números (%) y se analizaron usando la prueba χ^2 . La significación estadística se definió como $p < 0,05$. Las variables continuas se expresaron como medianas y se analizaron utilizando U de Mann-Whitney. Los análisis estadísticos se realizaron en STATA.

Resultados

El número de muestras procesadas por RT-PCR-TR y su positividad se muestran en la **Tabla I** considerando como años pre-pandémicos 2018 y 2019 y postpandémicos 2021 y 2022.

Tabla I. Muestras procesadas y porcentajes de detección con RT-PCR-TR por año entre 2018 y 2022.

Año	Muestras totales	Muestras Positivas	% de muestras positivas	Total de virus detectados	Muestras con 2 virus: Total/%	Muestras con más de 2 virus Total/%	Muestras negativas
2018	2175	1665	77	1814	149 (6.8)	1 (0.05)	510
2019	2217	1675	76	1859	179 (8.1)	10 (0.45)	542
2020	452	67	15	71	4 (0.9)	0 (0,00)	385
2021	1253	899	72	1010	99 (39.1)	9 (0.72)	354
2022	2072	1619	78	1789	343 (16.6)	31 (1.50)	316

COV y BOV tienen baja frecuencia y su poder patogénico aún se discute. Es por ello que inicialmente fueron testeados en muestras negativas de pacientes con factores de riesgo como oncohematológicos, con enfermedades respiratorias, cardiológicas y neurológicas de base, y que resultaran negativas para los demás virus. Considerando a partir de los resultados

obtenidos (se muestra 2019-2020) que había circulación en nuestro medio a partir de 2021 se estudiaron sistemáticamente en todas las muestras. Se encontraron en 176 muestras, 44 de las cuales eran co-detecciones con otros virus respiratorios. Su distribución se observa en la **Tabla II**.

Tabla II. Detección de BOV y COV 2018-2022

Año	BOV	229E	HKU1	NL63	OC43
2019	25	4	5	14	7
2020	2	0	2	1	0
2021	43	16	2	4	23
2022	93	10	23	16	34

BOV: Bocavirus; Coronavirus 229E; Coronavirus HKU1; Coronavirus NL63; Coronavirus OC43

En cuanto a la circulación de cada virus en particular se muestra la **Fig. 1**, se excluyeron para mayor claridad BOV y COV. En la **Tabla III** se muestra la distribución de los positivos según edad y sexo.

En los años 2018 y 2019 los patrones son semejantes. Comportamiento epidémico de RSV y FLUA, MPV circulando después de RSV. El patrón de FLUB no se pudo evaluar ya que

tuvo escasa presencia en estos años de 1-3%. Por el contrario, ADV, PIV 1-4, y RV muestran comportamiento endémico detectándose en los 2 años con distinta intensidad en todas las SE. En 2020 el patrón es completamente atípico: hasta la SE 12 en que comienza ASOP hay detección de RV, ADV, PIV1-4 y FLUB, esporádicamente RV y ADV y en la SE 29 luego del DISOP comienza la detección de SARS en esta población. En 2021 se vuelve a observar un patrón semejante a los años pre pandémicos: presentación epidémica sólo de RSV, sin aparición de MPV y FLU; circulación endémica de RV, ADV y PIV 1-4 agregándose ahora la detección de SARS. A partir de SE 28 cae bruscamente la detección de SARS y aumenta RSV. El 2022 comienza con una alta circulación de SARS hasta la SE 7 en que aparecen los virus con patrón epidémico, pero primero FLUA, luego MPV (pico SE22) seguido por RSV.

No hubo diferencia significativa en la distribución por sexo de positivos y negativos en ninguno de los años estudiados. Las medianas de edad de las muestras positivas y negativas presentaron diferencia significativa (U de Mann-Whitney 0.001) con excepción del 2020, con mayor detección de 0 a 12 meses en 2019 y entre 13 a 60 meses en 2021 (**Tabla III**)



Figura 1. Patrones de circulación viral 2018-2022.

Tabla III Distribución de los positivos según edad y sexo.

Año	2019	2020	2021	2022
Sexo: F/M	0,86	1,01	0,72	0,80
Mediana Meses	12	12	12	12
Mediana +/-	8/14*	12/12	12/9*	8/12*
Rango edad: χ^2	p<0001	p: 0,455	p: 0,002	p: 0,104
0 a 12 meses	73%	75%	62%	72%
13 a 60 meses	52%	70%	77%	76%

Tomamos 2018 y 2021 para analizar las presentaciones clínicas pre y pos pandemia de los virus prevalentes. Los resultados se describen en la **Tabla IV**. Se observa un incremento significativo en la detección de RV (χ^2 p<0,001).

En la **Tabla 5** y **Fig. 2** se analizan los criterios de gravedad requerimiento de oxígeno y de cuidados críticos y días de internación en infecciones simples y mixtas.

Tabla V Criterios de gravedad en infecciones simples y mixtas.

Criterio de gravedad			Mixtas	Simple
Requerimiento UCI	NO	N°	285	1227
		%	95	92
	SI	N°	16	102
		%	5	8
			301	1329
Requerimiento O2	NO	N°	104	533
		%	35	40
	SI	N°	197	796
		%	65	60
			301	1329

No hay diferencia significativa en el requerimiento de O2 y cuidados críticos en los niños con infecciones simples o mixtas. No hay diferencia significativa en los días de internación en los niños con infecciones simples o mixtas. (rangos de 1 a 30 días, con mediana 4 días) Prueba U de Mann-Whitney p: 0,215

Discusión y conclusiones

Este trabajo, comprueba que el uso de RT-PCR-TR brinda altos niveles de detección, del 70-75% vs 25-30% que teníamos con IFD, tal como muestra la bibliografía (Marcone et al, 2013). Aparece un alto número de co-detecciones y se visualiza que hay circulación en nuestro medio de COV y de BOV en todos los años estudiados (Marcone et al, 2015). Resta analizar su importancia clínica.

Tabla IV. Presentación clínica vs detección: analizamos 2018 y 2022 de los virus prevalentes.

	BQL		NMN		L. FEBRIL	
	RSV	RV	RSV	RV	RSV	RV
VIRUS 2019	48%	16%	26%	18%	6%	29%
2022	33%	34%	16%	35%	4%	36%

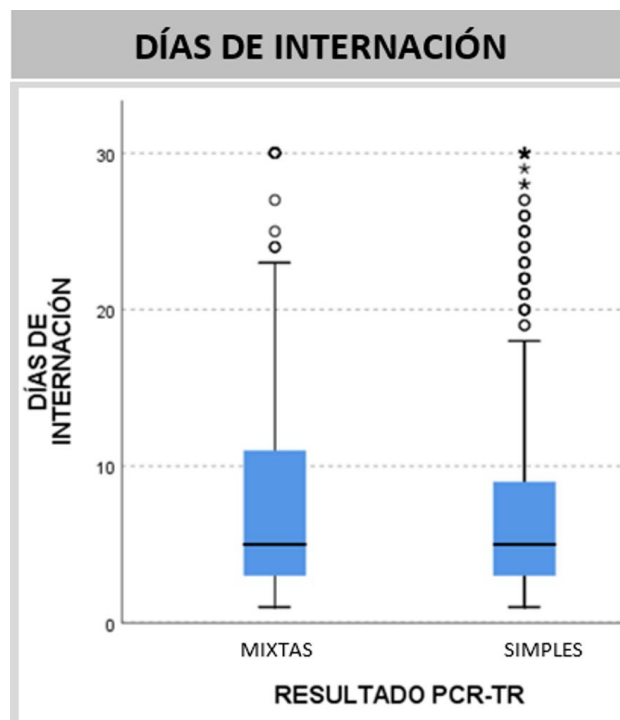


Figura 2. Días de internación en niños con detecciones simples y mixtas.

Las INF contra COVID-19 tienen diferentes impactos en los virus respiratorios: En 2020 con ASOP se registró reducción del 80% en la demanda y del 80% en la positividad global de los virus respiratorios. Encontramos que mientras la actividad general de los virus fue más baja durante el período con INF estrictos, se recuperó rápidamente después de que se relajaran medidas y se reanudaran las actividades sociales. Sin embargo, la circulación de RV y ADV se mantuvo incluso durante el período de intervenciones estrictas, especialmente RV (Zeng et al, 2021). Esto coincide con la bibliografía y podría ser en parte explicado por las mascarillas quirúrgicas que tienen mayor eficiencia en prevenir la transmisión por gotas que se da con FLUA, y una menor eficiencia en prevenir la transmisión del RV que ocurre principalmente por aerosoles (Vitucci et al, 2021). Por otra parte, RV y ADV son virus desnudos y resistentes a la desinfección con etanol y persisten más tiempo en el ambiente. Las INF podrían tener un efecto diferente en estas rutas de transmisión de los diferentes virus por lo que son necesarios estudios adicionales (Liu et al, 2021).

Comprobamos cambios en la distribución etiológica con el uso de RT-PCR-TR: RV es en todos los períodos el primer o segundo patógeno de importancia en la internación junto con RSV; con IFD RSV sumaba entre 60 y 75 % de los positivos ya que no se hacía diagnóstico de RV así permaneció subestimado, considérese que nuestra población corresponde a niños sintomáticos internados.

Observamos cambios en la estacionalidad pos pandemia, con circulación de FLUA aún con altas temperaturas y aparición invertida de MPV y RSV, en relación a los años pre pandémicos.

La circulación excepcionalmente baja de influenza durante más de 1 año (2020-2021) puede deberse a que la población general no estuvo expuesta al virus de la influenza durante un tiempo, lo que resultó en menor inmunidad, y se produjo el brote en el verano de 2022.

Hay un incremento significativo en la detección de RV 48% para BQL, 43% en NMN y en 34% de los lactantes febriles lo que requiere atención y reconsiderarlo como un patógeno importante en esta población.

Una limitación de nuestro estudio fue no poder incluir en la distribución etiológica y estacionalidad BOV y COV de baja patogenicidad por la falta de búsqueda sistemática en todos

los años. Esto se revierte a partir de 2021 y será motivo de futuros análisis.

Las infecciones mixtas no se relacionaron con criterios de gravedad como requerimiento de O2 y/o de cuidados críticos ni días de internación.

Referencias Bibliográficas

- Aghbash, P. S., Eslami, N., Shirvaliloo, M., & Baghi, H. B. (2021). Viral coinfections in COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 93(9), 5310–5322. <https://doi.org/10.1002/jmv.27102>
- Attaway, C., & Wang, H. (2024). Laboratory testing for respiratory viruses for the clinician. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 91(9), SUPPLEMENT 1. <https://doi.org/10.3949/ccjm.91.s1.07>
- Bergroth, E., Aakula, M., Elenius, V., Remes, S., Piippo-Savolainen, E., Korppi, M., et al. (2020). Rhinovirus type in severe bronchiolitis and the development of asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 8(2), 588–595. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.08.043>
- Berry, M., Gamielien, J., & Fielding, B. C. (2015). Identification of new respiratory viruses in the new millennium. *Viruses*, 7(3), 996–1019. <https://doi.org/10.3390/v7030996>
- Calderaro, A., De Conto, F., Buttrini, M., Piccolo, G., Montecchini, S., Maccari, C., et al. (2021). Human respiratory viruses, including SARS-CoV-2, circulating in the winter season 2019–2020 in Parma, Northern Italy. *International Journal of Infectious Diseases*, 102, 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.1473>
- Comité de Neumonología, Comité de Infectología, Comité de Medicina Interna Pediátrica, Comité de Pediatría Ambulatoria, Colaboradores. (2021). Recomendaciones para el manejo de las infecciones respiratorias agudas bajas en menores de 2 años. Actualización 2021. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 119(4), S171–S197.
- Das, S., Dunbar, S., & Tang, Y. W. (2018). Laboratory diagnosis of respiratory tract infections in children – the state of the art. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2478. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02478>
- De Conto, F., Conversano, F., Medici, M. C., Ferraglia, F., Pinardi, F., Arcangeletti, M. C., et al. (2019). Epidemiology of human respiratory viruses in children with acute respiratory tract infection in a 3-year hospital-based survey in Northern

- Italy. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 94(3), 260–267. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.01.008>
- Di Maio, V. C., Scutari, R., Forqué, L., Colagrossi, L., Coltella, L., Ranno, S., et al. (2024). Presence and significance of multiple respiratory viral infections in children admitted to a tertiary pediatric hospital in Italy. *Viruses*, 16, 750. <https://doi.org/10.3390/v16050750>
 - Jartti, T., Söderlund-Venermo, M., Hedman, K., Ruuskanen, O., & Mäkelä, M. J. (2013). New molecular virus detection methods and their clinical value in lower respiratory tract infections in children. *Pediatric Respiratory Reviews*, 14(1), 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2012.04.002>
 - Jeon, J. H., Han, M., Chang, H. E., Park, S. S., Lee, J. W., Ahn, Y. J., & Hong, D. J. (2019). Incidence and seasonality of respiratory viruses causing acute respiratory infections in the Northern United Arab Emirates. *Journal of Medical Virology*, 91(8), 1378–1384. <https://doi.org/10.1002/jmv.25464>
 - Liu, P., Xu, M., Cao, L., Su, L., Lu, L., Dong, N., & Xu, J. (2021). Impact of COVID-19 pandemic on the prevalence of respiratory viruses in children with lower respiratory tract infections in China. *Virology Journal*, 18, 159. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01627-8>
 - Marcone, D., Carballal, G., Ricarte, C., & Echavarría, M. (2015). Diagnóstico de virus respiratorios utilizando un sistema automatizado de PCR múltiple (FilmArray) y su comparación con métodos convencionales. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(1), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2014.12.003>
 - Marcone, D., Carballal, G., Ellis, A., Videla, C., Ekstrom, J., Ricarte, C., et al. (2013). Viral etiology of acute respiratory infections in hospitalized and outpatient children in Buenos Aires, Argentina. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 32(3), e118–e124. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31827cd06f>
 - Mengelle, C., Mansuy, J. M., Pierre, A., Claudet, I., Grouteau, E., Micheau, P., et al. (2014). The use of a multiplex real-time PCR assay for diagnosing acute respiratory viral infections in children attending an emergency unit. *Journal of Clinical Virology*, 61(3), 411–417. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.08.023>
 - Miyu, M., Hugentobler, W. J., & Iwasaki, A. (2020). Seasonality of respiratory viral infections. *Annual Review of Virology*, 7, 83–101. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-012420-022445>
 - Moreno, L., Barría, S., & Ferrero, F. (2021). Recommendations for the management of acute lower respiratory tract infections in children under 2 years of age, considerations for strengthening the first level of care. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 119(5), 292–293. <https://doi.org/10.5546/aap.2021.eng.292>
 - Orqueda, A., Luciona, M., Juárez, M., Barquez, R., Mischenko, A., & Gentile, A. (2022). Vigilancia de virus sincicial respiratorio e influenza en niños escolarizados asistidos en un hospital pediátrico durante 2 meses del segundo semestre de 2021. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 120(4), 269–273. <https://doi.org/10.5546/aap.2022.2>
 - Schuster, J. E., & Williams, J. V. (2018). Emerging respiratory viruses in children. *Infectious Disease Clinics of North America*, 32(1), 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2017.10.001>
 - Vittucci, A. C., Piccioni, L., Coltella, L., Ciarlito, C., Antilici, L., Bozzola, E., et al. (2021). The disappearance of respiratory viruses in children during the COVID-19 pandemic. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 9550. <https://doi.org/10.3390/ijerph18189550>
 - Zeng, Z., Guan, W., Liu, Y., Lin, Z., Liang, W., Liang, J., et al. (2022). Different circulation pattern of multiple respiratory viruses in Southern China during the COVID-19 pandemic. *Frontiers in Microbiology*, 12, 801946. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.801946>