

Bronquiolitis causadas por el virus influenza tipo A. Una enfermedad infecciosa emergente

Jordi Reina, Francisca Ballesteros, Xavier Mesquida, Mabel Galmes, Francesc Ferres^a y Enrique Ruiz de Gopegui

Unidad de Virología. Servicios de Microbiología Clínica y ^aPediatría. Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca.

OBJETIVOS. Estudiar prospectivamente la emergencia y la problemática diagnóstica de las bronquiolitis causadas por el virus influenza A en la población infantil durante la epidemia gripal de 1999-2000.

MATERIAL Y MÉTODOS. Las muestras del virus respiratorio sincitial (VRS)-negativas (ELISA *dot-blot*) fueron sembradas en la línea celular MDCK para el aislamiento del virus influenza A, mediante la técnica *shell-vial*. Los viales fueron revelados mediante una inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos dirigidos contra la nucleoproteína del virus influenza A (Monofluokit IA, Pasteur Diagnostics). Se estudiaron las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con aislamiento vírico. Se ha realizado un estudio teórico coste-beneficio sobre la utilidad de la detección antigénica rápida del virus influenza A.

RESULTADOS. Se han detectado 177 casos de infección respiratoria causada por el virus influenza A. En 62 casos (52,9%) el diagnóstico fue de bronquiolitis y de ellos el 80,6% de los casos eran menores de 6 meses. El subtipo H3N2 ha predominado en todas las infecciones respiratorias y particularmente en las bronquiolitis. En la temporada 1999-2000 se detectó una emergencia significativa de las bronquiolitis causadas por el virus influenza A (semana 3, 30% casos influenza A frente 24% casos VRS). El estudio de coste muestra que la detección antigénica de los VRS e influenza A en todas las muestras respiratorias determinaría un coste de unas 5.130 pts por muestra.

CONCLUSIONES. Se ha observado y confirmado en la última epidemia gripal una emergencia de las bronquiolitis causadas por el virus influenza A en la población pediátrica. Esta observación debería plantearnos una doble estrategia; por un lado de tipo profiláctico (vacunación de madres gestantes) y, por otro, de tipo diagnóstico (detección antigénica rápida del virus influenza A).

Palabras clave: virus influenza A, bronquiolitis, vacunación, diagnóstico rápido.

Correspondencia: Dr. J. Reina.
Unidad de Virología.
Servicio de Microbiología Clínica.
Hospital Universitario Son Dureta.
Andrea Doria 55.
07014 Palma de Mallorca.
Correo electrónico: jreina@hsd.es

Manuscrito recibido el 20-3-2001; aceptado el 27-6-2001.

Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19: 467-470

Bronchiolitis caused by influenza type A virus. An emerging infectious disease

OBJECTIVES. To prospectively study the emergence and diagnostic problems of bronchiolitis caused by influenza A virus among children during the 1999-2000 influenza epidemic.

MATERIALS AND METHODS. Negative respiratory syncytial virus (RSV) specimens (ELISA *dot-blot*) were seeded in the MDCK cell line for the isolation of influenza A virus, by the *shell-vial* technique. Vials were revealed by indirect immunofluorescence with antibodies directed against the influenza A virus nucleoprotein (Monofluokit IA, Pasteur Diagnostics). The clinical and epidemiologic features of patients with viral recovery were studied. A theoretical cost/benefit study was performed on the usefulness of the rapid antigenic detection of the influenza A virus.

RESULTS. A total of 177 cases of respiratory infection caused by influenza A virus were detected. In 62 cases (52.9%) the diagnosis was bronchiolitis. Of them, 80.6% of cases were aged less than 6 years. Subtype H3N2 predominated in all respiratory infections, particularly in bronchiolitis. During the 1999-2000 season, a significant emergence of bronchiolitis caused by influenza A virus was observed (week 3, 30% cases of influenza A versus 24% of RSV). The cost/benefit study disclosed that the antigenic detection of RSV and influenza A virus in all respiratory specimens would amount up to 30.83 Euros/specimen.

CONCLUSIONS. During the last influenza epidemic, an emergence of bronchiolitis caused by influenza A virus among children was observed and confirmed. Based upon this observation, a dual strategy should be followed. On the one hand, a prophylactic approach (immunization of pregnant women); on the other hand, a diagnostic approach with a rapid antigenic detection of the influenza A virus.

Key words: Influenza A virus, bronchiolitis, rapid diagnosis.

Introducción

La bronquiolitis es una enfermedad infecciosa, generalmente de etiología vírica que afecta preferentemente a los niños durante la etapa de lactancia (menos de doce meses) y que se presenta como brotes epidémicos durante los meses invernales^{1,2}.

De los virus implicados en esta infección respiratoria el virus respiratorio sincitial (VRS) es considerado como el principal agente etiológico. Se calcula que alrededor del 60%-80% de los casos positivos están causados por este virus¹⁻⁴. Sin embargo existen otros agentes víricos que también parecen participar en este proceso infeccioso, aunque casi siempre, y al menos hasta ahora, en un porcentaje mucho más bajo. Estos virus (virus influenza, adenovirus, parainfluenza y enterovirus) se repartirían el 25%-30% de la etiología restante^{1-3,5-7}.

Debido a la coincidencia epidemiológica de los brotes epidémicos de infección por el VRS en los niños y del virus influenza (gripe) en la población general, se hace muy difícil realizar el diagnóstico clínico diferencial entre estos dos agentes víricos en las bronquiolitis que afectan a la población lactante²⁻⁵.

En un estudio prospectivo realizado entre enero de 1995 y septiembre de 1999 observamos que en 90 niños con diagnóstico de infección respiratoria por el virus influenza, el 48,8% presentaba un cuadro clínico de bronquiolitis, el 16,7% de bronconeumonía y el 34,5% un síndrome febril con afección del tracto respiratorio alto⁸.

En la epidemia gripal de la temporada 1999-2000 observamos la emergencia del virus influenza A como un importante agente vírico causante de bronquiolitis en la población lactante, lo cual replantea cuestiones de tipo logístico a la hora de realizar o instaurar técnicas de diagnóstico rápido para establecer la etiología de estos procesos respiratorios.

Material y métodos

Se ha realizado un estudio prospectivo sobre las infecciones respiratorias causadas por el virus influenza A desde enero de 1995 hasta abril de 2000.

Las muestras analizadas han sido los aspirados nasofaríngeos que fueron remitidos directamente al laboratorio, en donde tras el proceso de extracción celular y homogeneización se les realizó la detección antigénica frente al VRS. La detección del VRS se realizó mediante el empleo de un sistema de enzimoimmunoensayo en fase sólida (tipo *dot-blot*) comercial (Directigen RSV; Becton & Dickinson, USA) que permite la detección de este virus en unos cinco minutos.

Las muestras que fueron positivas en esta prueba sólo fueron sembradas para el aislamiento de VRS, realizándose la inoculación en un vial de la línea celular Hep-2 (Vircell, Granada) y siguiendo la metodología *shell-vial* (cultivo post-centrifugación). A los dos días de incubación a 36°C los viales eran revelados mediante una inmunofluorescencia directa con un anticuerpo monoclonal contra el VRS (Monofluokit RSV, Pasteur Diagnostics).

Las muestras que eran negativas en la detección antigénica frente al VRS eran inoculadas (200 µl/muestra) en dos viales de la línea celular Hep-2 (para aislamiento del VRS y adenovirus), dos viales de la línea celular MDCK (aislamiento virus influenza A e influenza B), dos viales de la línea celular LLC-MK2 (aislamiento del virus parainfluenza 1, 2 y parainfluenza 3) y un vial de la línea celular MRC-5 (aislamiento de enterovirus).

Todas las muestras se sembraron siguiendo el procedimiento de cultivo *shell-vial* y fueron incubadas durante tres días a 36°C. Tras este período los diferentes viales fueron revelados con anticuerpos monoclonales dirigidos contra cada uno de los distintos virus (Monofluokit, Pasteur Diagnostics).

Desde el punto de vista epidemiológico sólo se estudió la edad de los pacientes, el momento de aparición del proceso clínico y las características del mismo. Se agruparon los diagnósticos clínicos en tres grandes procesos designados bronquiolitis, síndrome febril del tracto respiratorio superior (SFTRS) y bronconeumonía-neumonía.

También se ha realizado un estudio teórico sobre coste-beneficio referente a la utilización de las pruebas de detección directa del virus influenza A en las muestras respiratorias que fueron VRS-negativas durante el período de noviembre de 1999 hasta abril de 2000. Para este cálculo se ha utilizado el precio de 3.000 pts del reactivo para detectar el VRS (Directigen RSV, Becton & Dickinson, USA) y el virus influenza A (Directigen FluA, Becton & Dickinson, USA), según el coste medio de los mismos en nuestro hospital.

El análisis estadístico se ha realizado utilizando la prueba de la Ji al cuadrado y la determinación de la "t" de Student para los datos pareados. Todos los valores de p son con dos colas y se ha considerado como significativo un valor de p < 0,05.

Resultados

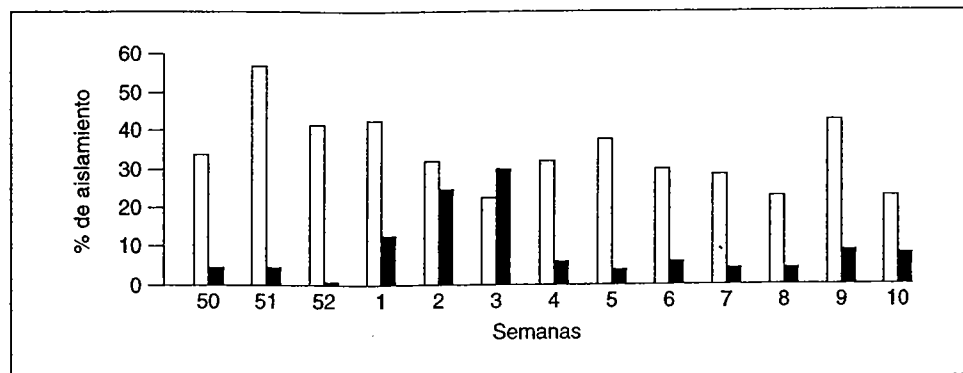
Durante el período de estudio se han detectado 117 casos de infección respiratoria causada por el virus influenza A, todos ellos diagnosticados por aislamiento vírico. En 62 casos (52,9%) el paciente fue diagnosticado de bronquiolitis y de ellos 50 niños (80,6%) tenían una edad inferior o igual a seis meses; en 38 casos (32,4%) el diagnóstico fue de bronconeumonía o neumonía y en 17 (14,5%) de SFTRS. En estas dos últimas infecciones respiratorias el porcentaje de pacientes con edad inferior o igual a los seis meses fue del 10,5% y 23,5% respectivamente; observándose una diferencia estadísticamente significativa (p<0,05) con respecto a los pacientes con bronquiolitis.

De los 117 casos de infección por el virus influenza A, 105 (89,7%) fueron causados por el subtipo H3N2 y 12 (23,5%) por el subtipo H1N1 (p<0,05). En los pacientes con bronquiolitis también predominó el subtipo H3N2 (88,7%) frente al H1N1 (11,3%) (p<0,05) (tabla 1).

TABLA 1. Relación entre la edad y la infección respiratoria causada por el virus influenza A

Infección respiratoria	Edad (meses)				Total
	1-3	4-6	7-12	>13	
Bronquiolitis					62 (52,9%)
H1N1	3	3	1	0	7
H3N2	28	16	11	0	55
Neumonía					17 (14,5%)
H1N1	0	1	0	0	1
H3N2	1	2	9	4	16
Síndrome febril					38 (32,4%)
H1N1	0	0	1	3	4
H3N2	2	2	13	17	34
	34 (29,1%)	24 (20,5%)	35 (29,9%)	24 (20,5%)	117

Figura 1. Evolución de los porcentajes de aislamiento del virus respiratorio sincitial (barras blancas) y del virus influenza A (barras negras).



En la temporada invernal 1999-2000 se observó de una forma muy evidente la emergencia del virus influenza A en los casos de bronquiolitis frente a otras infecciones respiratorias y especialmente en los pacientes con edad inferior o igual a los 6 meses (77,2%) (tabla 2).

Desde el punto de vista epidemiológico el virus influenza A alcanzó en esta última temporada porcentajes etiológicos muy cercanos a los detectados por el VRS, especialmente en las semanas de mayor actividad gripal. Así en la segunda semana el VRS representó el 32% de todos los aislamientos frente al 26% del virus influenza A, y en la tercera semana el VRS se aisló en el 24% frente al 30% del virus influenza A (fig. 1).

El estudio de coste-beneficio se ha realizado sobre las 1.027 muestras respiratorias recibidas en el período analizado. Todas ellas fueron sometidas a la detección antigénica del VRS con un coste global de 3.081.000 pts, detectándose 295 muestras positivas para este virus, lo cual representa un precio medio de 10.444 pts por muestra positiva. Deberían ser sometidas a detección antigénica frente al virus influenza A sólo 732 muestras con un coste global de 2.196.000 pts; al haberse detectado en ellas 72 muestras positivas a este virus, se obtendría un coste de 30.500 pts por muestra positiva. El coste global de las dos detecciones antigénicas representarían 5.277.000 pts, correspondientes a 5.138 pts por muestra procesada.

Discusión

Como ya se ha mencionado, la bronquiolitis es una entidad infecciosa muy frecuente que afecta alrededor del 20% de la población pediátrica con una edad inferior a los 12 meses^{1,2}. El principal agente etiológico es el VRS que representa entre el 60%-80% de los casos confirmados por detección antigénica o aislamiento⁴⁻⁷.

De los otros virus que también pueden desarrollar una bronquiolitis clínicamente indistinguible de la causada por el VRS, los virus gripales (preferentemente el virus influenza A o gripal A) parecen ir adquiriendo una mayor significación e importancia epidemiológica¹⁻⁷.

En la última temporada invernal (1999-2000) observamos una elevada actividad gripal en la población que tuvo su repercusión en la población infantil atendida en el servicio de urgencias pediátricas. Debido a que normalmente las epidemias de bronquiolitis por VRS y la epidemia de gripe invernal se solapan durante unos 2-3 meses, se hace muy difícil desde el punto de vista clínico y especialmente en los niños menores de doce meses, en los que la gripe no presenta características clínicas semejantes al adulto, diferenciar entre estas dos etiologías víricas. Por lo tanto la única forma de realizarlo es a través del diagnóstico virológico (detección o aislamiento vírico).

Desde hace tiempo los diferentes estudios han mostrado no sólo la utilidad, sino la necesidad de realizar la detección antigénica rápida del VRS en los niños con bronquiolitis que van a ser ingresados en el hospital a fin de habilitar una logística que impida las infecciones cruzadas y por ello las infecciones nosocomiales siempre mucho más graves^{3,5}. Esta misma detección antigénica no ha sido suficientemente evaluada en las infecciones por los virus gripales, especialmente el tipo A de mayor virulencia. Recientemente Noyola et al⁹ han realizado este tipo de evaluación y han observado cómo el empleo de un método rápido de detección antigénica frente al virus influenza A podía repercutir en el manejo de los niños con bronquiolitis. Los niños con detección positiva, y por lo tanto con un diagnóstico etiológico, recibían menos antibióticos y durante menos tiempo, y presentaban estancias hospitalarias más cortas.

TABLA 2. Distribución por edades de los niños con infección por el virus influenza A

Año	Número	1-3 meses	4-6 meses	7-12 meses	>13 meses
1995	10	2	2	4	2
1996	14	5	2	6	1
1997	12	1	3	3	5
1998	32	9	5	10	8
1999	27	7	5	7	8
2000	22	10	7	5	0
	117	34 (28,4)*	24 (17,8)	35 (28,4)	24 (25,2)

* Porcentaje sobre el número total de casos.

La observación en nuestro estudio de una emergencia evidente de las bronquiolitis por el virus influenza A durante las semanas de mayor actividad gripal comunitaria nos obliga a replantearnos la logística diagnóstica de las infecciones respiratorias víricas en la época invernal. Los diferentes estudios epidemiológicos han mostrado cómo la gripe afecta a la población infantil con un impacto de 1,5-3 veces superior a la población adulta^{10,11}, determinando un incremento de la morbilidad tanto por las complicaciones respiratorias directas como por las asociadas, tales como la otitis media (20% en menores de seis años)^{12,13}. Además los niños son generalmente los introductores y deseminadores de la infección gripal dentro de las comunidades tanto familiares como extrafamiliares¹³⁻¹⁵.

Todas estas consideraciones deben llevarnos a plantear la verdadera significación de las infecciones gripales en esta población y muy especialmente en los lactantes (menos de doce meses). Como se puede observar, en este grupo de edad se han concentrado la mayoría de las bronquiolitis, mientras que las bronconeumonías se han detectado en niños de mayor edad, tal y como han mostrado otros estudios previos^{11,13,14}. Además de los dos subtipos del virus influenza A que actualmente cocirculan, el H3N2 es el que se ha mostrado especialmente prevalente en todas las infecciones respiratorias^{8,14}.

La emergencia de estos procesos infecciosos gripales plantea dos problemas a resolver. En primer lugar la forma de prevenir las bronquiolitis, especialmente en los niños menores de seis meses. Existe una posibilidad ya apuntada por la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹⁶ y que consiste en la vacunación en el segundo o tercer trimestre de las mujeres embarazadas que vayan a tener sus hijos en los meses de la epidemia gripal. Vacunando a las mujeres embarazadas no sólo se las protegería a ellas, deben considerarse como de alto riesgo^{17,18}, sino que se protegería por transmisión pasiva a los hijos durante un tiempo prolongado¹⁹. Por lo tanto esta estrategia vacunal parece razonable y debería ser instaurada de una forma progresiva, sobre todo si se comprueba el incremento de las bronquiolitis por los virus gripales.

Por otro lado debemos analizar la necesidad de realizar de una forma rutinaria la detección antigénica de los virus gripales en las muestras de los niños con el diagnóstico clínico de bronquiolitis²⁰. Por ello hemos realizado un estudio teórico sobre el coste de este tipo de detección, que evidentemente sólo se realizaría a las muestras que fueran VRS-negativas y durante el período invernal en el que se tuviera conocimiento de la circulación de virus gripales.

De este estudio se desprende que por poco más de 5.000 pts podríamos detectar antigénicamente los dos principales virus causantes de bronquiolitis en nuestro entorno epidemiológico. Es difícil valorar si esta propuesta es coste-beneficiosa, pero de los 17 casos de bronquiolitis causados por el virus influenza A en menores de seis meses, en cuatro pacientes (23,5%) se consideró que la infección fue nosocomial, tras comprobarse que eran negativos a este virus en las muestras tomadas al ingreso. La detección de los virus gripales en urgencias permitiría considerar a estos niños como infectados y evitar su contacto con otros niños ingresados por otras enfermedades no siempre respiratorias. En dos niños la gravedad del proceso respiratorio causado por el virus gripal obligó a prolongar la estancia más allá de lo habitual.

Evidentemente si pudiéramos valorar y cuantificar el coste económico de los días suplementarios de estancia hospitalaria y la morbilidad asociada a los casos no diagnosticados, entonces sí se podría evaluar adecuadamente si la detección antigénica de los virus gripales es un proceso coste-beneficio adecuado. Debe considerarse sin embargo que los cálculos anteriores de coste están realizados en un período epidémico de gran actividad gripal, por lo tanto con elevadas probabilidades de detectar casos positivos. En aquellos períodos de escasa o baja actividad gripal, como el actual (2000-2001), el planteamiento de la logística de diagnóstico podría no ser igual de beneficiosa desde el punto de vista del coste-beneficio real.

En resumen, la detección de la emergencia del virus influenza A como agente etiológico de un porcentaje importante de bronquiolitis en la población lactante debe plantearnos actuaciones futuras tanto desde el punto de vista profiláctico (vacunación maternal) como de la logística del diagnóstico (rápido y específico).

Bibliografía

- Hall CB, McBride JT. Bronchiolitis. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases (5th ed). Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000; 710-717.
- Welliver RC. Bronchiolitis and infectious asthma. En: Feigin RD, Cherry JD eds. Textbook of pediatric infectious disease (4th ed). Philadelphia: WB Saunders Co, 1998; 249-259.
- Henderson FW, Clyde WA, Collier AM, Denny FW. The etiologic and epidemiologic spectrum of bronchiolitis in pediatric practice. *J Pediatr* 1979; 95: 183-190.
- Hall CB. Respiratory Syncytial virus. En: Feigin RD, Cherry JD eds. Textbook of pediatric infectious diseases (4th ed). Philadelphia: WB Saunders Co, 1998; 2.084-2.110.
- Chang TC, Wang CL, Han HL. Etiologic and clinical investigation of bronchiolitis. *Chinese Med J* 1978; 4: 135-141.
- Yun BY, Kim MR, Park JY, Choi EH, Lee HJ, Yun CY. Viral etiology and epidemiology of acute lower respiratory tract infections in Korean children. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 1.045-1.059.
- Tsai HP, Kuo PH, Liu CC, Wang JR. Respiratory viral infections among pediatric in patients and outpatients in Taiwan from 1997-1999. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 111-118.
- Reina J, Ballesteros R, Ferrer F, Figuerola J, Mesquida X, Galmes M. Correlación entre los subtipos H3N2 y H1N1 del virus influenza A y los diferentes tipos de patología respiratoria. *Rev Esp Pediatr* 2001 (En prensa).
- Noyola DE, Demmler GJ. Effect of rapid diagnosis on management of influenza A infections. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 303-307.
- Glezen WP, Paredes A, Taber LH. Influenza in children: relationship to other respiratory agents. *JAMA* 1980; 243: 1.345-1.349.
- Monto AS, Sullivan KM. Acute respiratory illness in the community: frequency of illness and the agents involved. *Epidemiol Infect* 1993; 110: 145-160.
- Belshe RB, Mendelman PM, Treanor J. The efficacy of live attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine in children. *N Engl J Med* 1998; 338: 1.405-1.412.
- Piedra PA, Glezen WP. Influenza in children: epidemiology, immunity and vaccines. *Semin Pediatr Infect Dis* 1991; 2: 140-146.
- Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Gruber WC, Piedra PA. Influenza virus infections in infants. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 1.065-1.068.
- Hayden FG, Palese P. Influenza virus. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, eds. Clinical virology. New York: Churchill Livingstone, 1997; 911-942.
- ACIP. Prevention and control of influenza. *MMWR* 2000; 49(RR03): 1-38.
- Neuzil KM, Reed GW, Mitchel EF, Simonsen L, Griffin MR. Impact of influenza on acute cardiopulmonary hospitalizations in pregnant women. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 1.049-1.102.
- Heinonen OP, Shapiro S, Monson RR, Hartz SC, Rosenberg L, Slone D. Immunization during pregnancy against poliomyelitis and influenza in relation to childhood malignancy. *Int J Epidemiol* 1973; 2: 229-235.
- Reina J, Ballesteros F. La vacuna de la gripe en el nuevo milenio: perspectivas e indicaciones pediátricas. *Rev Esp Pediatr* 1999; 55: 489-496.
- Reina J. ¿Es necesario en la actualidad una detección virológica rápida y específica de la gripe? *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19.