

3. El laboratorio de microbiología en la estrategia de atención de niños hospitalizados por infecciones respiratorias agudas bajas

The role of the microbiology laboratory in the caring of hospitalized children with severe low respiratory infections

O papel do laboratório de microbiologia na estratégia de atendimento de crianças hospitalizadas por infecções respiratórias agudas inferiores

Introducción

El Departamento de Patología Clínica y el Laboratorio de Microbiología del Centro Hospitalario Pereira Rossell han acompañado a los demás sectores del hospital en las acciones del Plan de Invierno.

En el año 1998 se realizó un Plan Piloto, en colaboración con el Departamento de Bacteriología y Virología de la Facultad de Medicina, Universidad de la República, y se comenzaron a estudiar los agentes virales causantes de infecciones respiratorias en niños hospitalizados por técnicas de inmunofluorescencia. En 1999, se incorporó la investigación sistemática del diagnóstico viral en estos pacientes. En el 2000, se comenzó a realizar la investigación de antígenos virales en el Laboratorio de Microbiología del CHPR, utilizando ensayos inmunocromatográficos. En 2016 se incorporaron en este laboratorio técnicas de detección de ácidos nucleicos.

Técnicas implementadas

Detección de antígenos virales. Realizada en secreciones respiratorias que se obtienen mediante un aspirado nasofaríngeo (ANF) por técnica inmunocromatográfica. Los virus estudiados fueron influenza A y B, virus respiratorio sincicial (VRS) y adenovirus.

La técnica de inmunocromatografía tiene una sensibilidad entre 50% y 80%, y una especificidad que varía entre 70% y más de 90%. Estos valores surgen de estudios y revisiones publicados que en general fueron realizados de cada virus en forma independiente. La mayoría de las publicaciones se refieren fundamentalmente a influenza A y B y VRS, y en menor cantidad a adenovirus. Los estudios que informaron mejor comportamiento para influenza refirieron una especificidad cercana a 100%, con numerosos falsos negativos. Las investigaciones sobre VRS informaron valores elevados de especificidad, con sensibilidad más elevada que para influenza, pudiendo alcanzar 80%⁽¹⁻⁹⁾.

Tabla 1. Agentes de infecciones respiratorias detectados por detección de ácidos nucleicos.

Virus	Bacterias
Adenovirus	<i>Bordetella pertussis</i>
Coronavirus 229E	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>
Coronavirus HKU1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Coronavirus OC43	
Coronavirus NL63	
Human Metapneumovirus	
Human Rhinovirus/Enterovirus	
Influenza A	
Influenza A/H1	
Influenza A/H1-2009	
Influenza A/H3	
Influenza B	
Parainfluenza 1	
Parainfluenza 2	
Parainfluenza 3	
Parainfluenza 4	
VRS	

El rendimiento de esta técnica está influenciado por cambios que ocurren en la prevalencia de los virus (circulación estacional), variaciones en las cepas virales circulantes, el tiempo transcurrido desde el comienzo de la enfermedad hasta el momento de recolección de la muestra (las muestras precoces tienen mejor performance que las tardías), el tipo y calidad de la muestra respiratoria (los aspirados nasofaríngeos son mejores muestras que los hisopados nasales o faríngeos), la edad (los niños tienen mayor carga viral que los adultos y los niños pequeños tienen cargas superiores que los más grandes), y finalmente la severidad de la enfermedad⁽¹⁻⁹⁾.

Detección de ácidos nucleicos. Esta técnica se incorporó en 2016. Se realiza en una plataforma cerrada que detecta ácidos nucleicos de patógenos que causan infecciones respiratorias. Esto ha permitido, en algunos casos,

Tabla 2. Ventajas y desventajas de las técnicas directas de diagnóstico virológico.

Técnica	Ventajas	Desventajas
Cultivo viral	Alta especificidad. Buena reproducibilidad.	Limitada sensibilidad. Sólo disponible en laboratorios de referencia. Realización compleja. Coste elevado. Procedimiento lento, resultados en 3-21 días. Necesidad de un volumen mínimo de muestra, difícil de obtener en niños pequeños.
Técnicas moleculares	Buena sensibilidad. Buena especificidad. Rapidez, resultados en 3-8 horas. Necesidad de poco volumen de muestra para resultados óptimos. Plataformas cerradas, no requieren de laboratorio especializado.	Necesidad de laboratorio especializado para técnicas convencionales. Coste elevado.
Inmunofluorescencia directa	Técnicas relativamente sencillas y rápidas. Resultados en 2-4 horas. Coste relativamente bajo.	Puede dar reacciones cruzadas entre patógenos relacionados. Interpretación subjetiva, reproducibilidad baja.
Inmunocromatografía seca	Técnicas muy sencillas y muy rápidas, resultados en menos de una hora. Sin necesidad de equipamiento. Pueden realizarse en la cabecera del enfermo. Alta disponibilidad en los centros sanitarios.	Limitada sensibilidad. Especificidad variable según patógeno. Elevado coste. No disponible para todos los patógenos.

identificar agentes que no se estaban estudiando, así como confirmar o descartar resultados de difícil interpretación, como coinfecciones o casos de influenza al inicio de los empujes epidémicos. Las muestras estudiadas se recogen en medio de transporte viral. Esta plataforma (*FilmArray*, *Biofire*) detecta 20 agentes vinculados a infecciones respiratorias, 17 virus y 3 bacterias (tabla 1)⁽¹⁰⁾.

En la tabla 2 se describen las ventajas y desventajas de las técnicas directas para diagnóstico virológico.

Recursos humanos y materiales, logística

La realización de estas técnicas requiere recursos humanos especializados y entrenados (licenciados en laboratorio clínico, auxiliares técnicos de laboratorio).

Durante los meses fríos del año el aumento en la demanda de estas técnicas determina un incremento muy importante en los insumos necesarios. Dicho aumento también modifica la logística del Laboratorio de Microbiología, que debe extender su horario de funcionamiento, dar prioridad a áreas críticas y acortar los tiempos de espera de resultados.

Referencias bibliográficas

1. Landry M, Cohen S, Ferguson D. Real-time PCR compared to Binax NOW and cytospin-immunofluorescence for detection of influenza in hospitalized patients. *J Clin Virol* 2008; 43(2):148-51.
2. Rahman M, Vandermause M, Kieke B, Belongia E. Performance of Binax NOW Flu A and B and direct fluorescent assay in comparison with a composite of viral culture or reverse transcription polymerase chain reaction for detection of

- influenza infection during the 2006 to 2007 season. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 62(2):162-6.
3. Chartrand C, Leeflang M, Minion J, Brewer T, Pai M. Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 2012; 156(7):500-11.
4. Bruning A, Leeflang M, Vos J, Spijker R, de Jong M, Wolthers K, et al. Rapid tests for influenza, respiratory syncytial virus, and other respiratory viruses: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2017; 65(6):1026-32.
5. Fujimoto T, Okafuji T, Okafuji T, Ito M, Nukuzuma S, Chikahira M, et al. Evaluation of a bedside immunochromatographic test for detection of adenovirus in respiratory samples, by comparison to virus isolation, PCR, and real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2004; 42(12):5489-92.
6. Romero M, López R, González R, Ots C, Hierro S, Martín M, et al. Immunochromatographic test for detection of adenovirus from respiratory samples: is it a real solution for pediatric emergency department? *J Virol Methods* 2014; 195:236-9.
7. Romero M, González M, Hierro S, Gutiérrez A. Evaluación de un nuevo método de inmunocromatografía para la detección rápida de adenovirus en muestras respiratorias de pacientes pediátricos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26(9):598-9.
8. Marimón J, Navarro J. Métodos de diagnóstico rápido de las infecciones respiratorias. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2017; 35(2):108-15.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Evaluation of 11 commercially available rapid influenza diagnostic tests—United States, 2011-2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012; 61(43):873-6.
10. Miernyk K, Bulkow L, DeByle C, Chikoyak L, Hummel KB, Hennessy T, et al. Performance of a rapid antigen test (Binax NOW® RSV) for diagnosis of respiratory syncytial virus compared with real-time polymerase chain reaction in a pediatric population. *J Clin Virol* 2011; 50(3):240-3.