

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL EN POBLACION INFANTIL MENOR DE 5 AÑOS

AUTORES:

Lic. Milagros Portillo S.
Lic. María Enriqueta Maioriello V.

TUTORES:

Lic. Linda Blitz de Dorfman
Lic. Diana Callejas

RESUMEN

Existe en nuestro país una alta incidencia de enfermedades respiratorias agudas en pacientes pediátricos especialmente neumonías y bronquiolitis. Debido a la ausencia de información sobre el estado inmune de nuestra población y a la etiología de estas infecciones, se realizó un estudio para determinar la prevalencia de anticuerpos contra virus respiratorios Sincicial (VRS), como probable agente etiológico de estos cuadros infecciosos. Cincuenta y seis (56) muestras de suero provenientes de niños menores de 5 años de edad, de los diferentes hospitales públicos de la ciudad de Maracaibo, fueron analizadas por el método de Inmunofluorescencia indirecta; de los sueros estudiados, treinta y dos (32) de ellos resultaron seropositivos, representando un 57%, lo que indica una alta prevalencia de anticuerpos contra el VRS, pudiendo inferir que en nuestro medio el virus afecta el tracto respiratorio de niños a muy temprana edad.

INTRODUCCION

El Virus Respiratorio Sincicial (VRS) es el mayor agente patógeno respiratorio en infantes y niños

pequeños. (8). Pertenece a la familia paramixoviridae y está clasificado en el género del neumovirus. Es un virus de RNA que mide entre 120 y 300 nm. Posee proyecciones glicoprotéicas de 12 nm. de longitud y 10 nm. de ancho, dando una apariencia de brazo (5).

El nombre que inicialmente recibió el VRS fue el de agente productor de la Corisa del Chimpacés (ACC) desde que fue aislado en 1956 de una colonia de Chimpacés que estaban sufriendo de enfermedades respiratorias (1).

Ha sido reconocido en todas partes del mundo como el agente causante de neumonías y bronquiolitis en infantes y de traqueobronquitis e infecciones del trato respiratorio en jóvenes y adultos (5).

Los cultivos celulares infectados con VRS tienen características sinciciales con inclusiones eosinofílicas intracitoplasmáticas (7).

El período de incubación de la enfermedad es de 3 a 6 días: con una fluctuación de 2 a 8 días. El agente viral penetra por los ojos, la nariz y ocasionalmente por la boca. La diseminación subsecuente del virus es a través del epitelio del tracto respiratorio, mayormente por transferencia de virus de célu-

* Este trabajo se hizo acreedor al Premio: "Profesora Franca Billi", otorgado por la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, año 1990.

las a células, mediante los puentes intracitoplasmáticos. Este se disemina hacia el tracto respiratorio bajo, produciendo bronquiolitis y/o neumonía (5).

La enfermedad del tracto respiratorio inferior producida por este agente viral, parece estar limitada generalmente a los primeros 2 a 3 años de vida. Las infecciones a repetición tales como afecciones del tracto respiratorio superior o bronquitis pueden ocurrir posteriormente, resultando menos severas. La reinfección también puede ocurrir durante los primeros 3 años de vida y una segunda infección en este período puede ser más severa que la primera, por lo tanto la inmunidad no es perdurable (5).

La respuesta inmune normal a la infección del VRS ha sido mejor estudiada recientemente, pero aún se desconocen los componentes responsables de la protección. La infección primaria está asociada con una respuesta de anticuerpos específicos IgM la cual es transitoria. Alrededor de la segunda semana después de la infección pueden ser detectados anticuerpos IgG pero la cantidad disminuye después, entre 1 ó 2 meses (5).

Johnson K. M. y colaboradores demostraron que todos los niños mayores y adultos poseen anticuerpos neutralizantes para VRS; por lo que infecciones en estos grupos reflejan reinfecciones (6).

Gadner y colaboradores describieron una técnica de anticuerpos de inmunofluorescencia indirecta (IFAi) para el diagnóstico rápido de VRS en especímenes clínicos, usada exitosamente en Inglaterra desde 1958. La IFAi fue seleccionada debido al incremento de la sensibilidad de esta técnica (7).

Esta técnica demuestra la presencia de anticuerpos IgG contra VRS en el suero humano, utilizándose como método diagnóstico de algunas infecciones virales humanas y de animales (2).

La prueba es sensible y específica y tiene un 92% de sensibilidad para especímenes positivos y un 94% de especímenes negativos (7).

En vista de la alta incidencia de infecciones respiratorias agudas, especialmente neumonías y bronquiolitis, en pacientes pediátricos y a la ausencia de información sobre el estado inmune de nuestra población a este agente viral específico, se inició un estudio en los hospitales públicos de la ciudad de Maracaibo para determinar la prevalencia de anticuerpos contra el VRS en niños pequeños menores de 5 años.

MATERIALES Y METODOS

El estudio consistió en recolectar 56 muestras de sangre obtenidas al azar de niños menores de 5 años, que asistieron al servicio de pediatría de diferentes hospitales públicos de Maracaibo (Chiquinquirá, Universitario, General del Sur, Centro Materno Infantil Raúl Leoni y Hospital de Niños), durante el período de marzo a mayo 1988. Para el momento de la toma de la muestra los pacientes no presentaban ningún tipo de afección respiratoria.

La toma de la muestra se hizo en dos formas:

— En niños menores de un (1) año se tomó la muestra de sangre de la vena femoral.

— En niños mayores de un (1) año se tomó la muestra de sangre de la vena mediana cefálica utilizando la técnica habitual. (Venocclisis).

Se obtuvieron 3 cc. de sangre en tubos previamente identificados y sin anticoagulante.

Una vez tomadas las muestras fueron remitidas al Laboratorio Regional de Referencia Viroológica del Instituto de Investigaciones Clínicas, para la obtención de los sueros correspondientes.

La sangre recolectada fue centrifugada a 1.000 rpm. durante 10'; utilizando pipetas Pasteur se separó el suero de cada una de las muestras, el cual posteriormente fue almacenado en viales a -20°C .

Antes de realizar la prueba, los sueros se colocaron en Baño de María a 56°C durante 30', con el fin de eliminar las reacciones inespecíficas e inactivar el complemento.

Se utilizó un kit de Inmunofluorescencia indirecta (Virgo Tm Reagents, manufacturado por Electronucleonics).

Láminas portaobjeto conteniendo células infectadas con el virus, fueron colocadas a temperatura ambiente.

Se procedió a cubrir cada hoyito de la lámina con una gota del suero de cada paciente diluido 1:8; fueron incluidos control positivo y control negativo. Se incubaron en cámara húmeda a 37°C durante 30'. Las láminas se lavaron con buffer fosfato salino (PBS) y se secaron con aire caliente.

Una gota del conjugado rehidratado fue colocada encima de cada orificio. Los controles fueron tratados de la misma manera. Las láminas se incubaron nuevamente en cámara húmeda a 37°C durante 30'. Se repitieron los pasos de lavado y secado,

y se agregaron 4 gotas de glicerol buferado sobre la parte media de cada lámina. Se cubrió con una lámina cubreobjeto y se observó al microscopio de fluorescencia (Zeiss MC-63) con el objetivo de 40x.

Se consideró la prueba positiva cuando se observó una fluorescencia verde manzana brillante en el citoplasma de las células infectadas, observándose también la formación de sincicio, es decir, agrupación de varias células gigantes multinucleadas (control positivo).

Se consideró la prueba negativa, cuando no se observó fluorescencia verde manzana brillante en las células infectadas, observándose el citoplasma de la célula de color rojo o naranja y el núcleo gris mate o negro (control negativo).

El fundamento del método descrito consiste en dos pasos reaccionantes:

1. El suero humano a ser probado es puesto en contacto con el sustrato antigénico; el anticuerpo si está presente en el suero se unirá al antígeno formando un complejo antígeno-anticuerpo, de lo contrario si no existen anticuerpos no se forma el complejo y todos los componentes del suero son lavados en el ciclo de enjuague.

2. Este paso incluye agregar un anticuerpo antihumano ligado con isotiocianato de fluoresceína; si se forma el complejo antígeno-anticuerpo, el anticuerpo fluorescente se unirá y dará una reacción positiva (2).

RESULTADOS

En los estudios realizados se obtuvo que de 56 sueros analizados, 32 de ellos resultaron seropositivos, lo que representa un 57%. (VER GRAFICO NUMERO 1).

En el GRAFICO N° 2 se muestra la presencia de anticuerpos contra el VRS por grupos etáreos. Se observa que en edades comprendidas entre 1 día y 6 meses de edad, fueron investigados un total de 20 casos de los cuales 11 resultaron seropositivos para un total de 55%; de 7 a 12 meses, de 9 casos investigados 1 resultó seropositivo (11%); de 13 a 24 meses, 3 resultaron seropositivos, significando un 30%; de 25 a 36 meses, 7 de los 7 casos fueron seropositivos, (100%); de 37 a 48 meses, 4 de los 4 casos resultaron seropositivos para un total de 100% y de 49 a 60 meses, 6 de los 6 casos estudiados resultaron seropositivos (100%).

Gráfico 1

Relación de casos positivos y negativos para virus respiratorio Syncicial en niños menores de 5 años

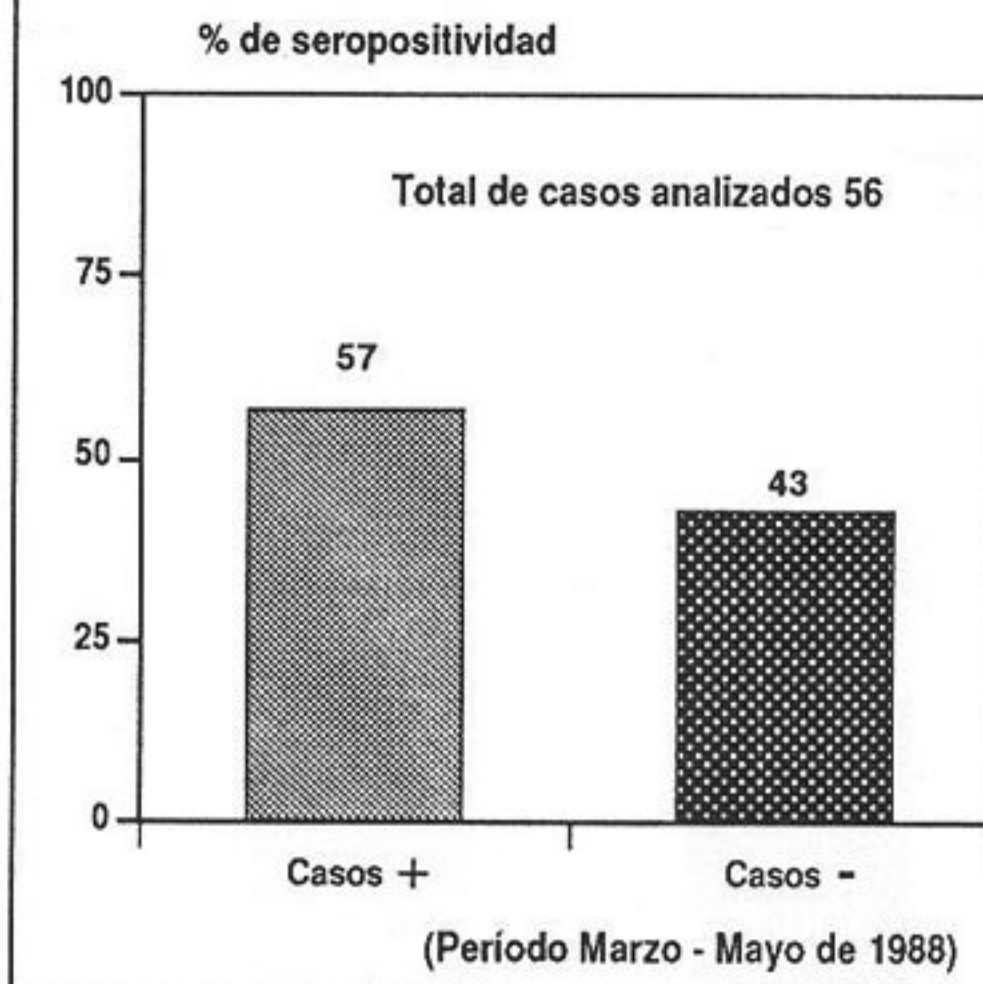
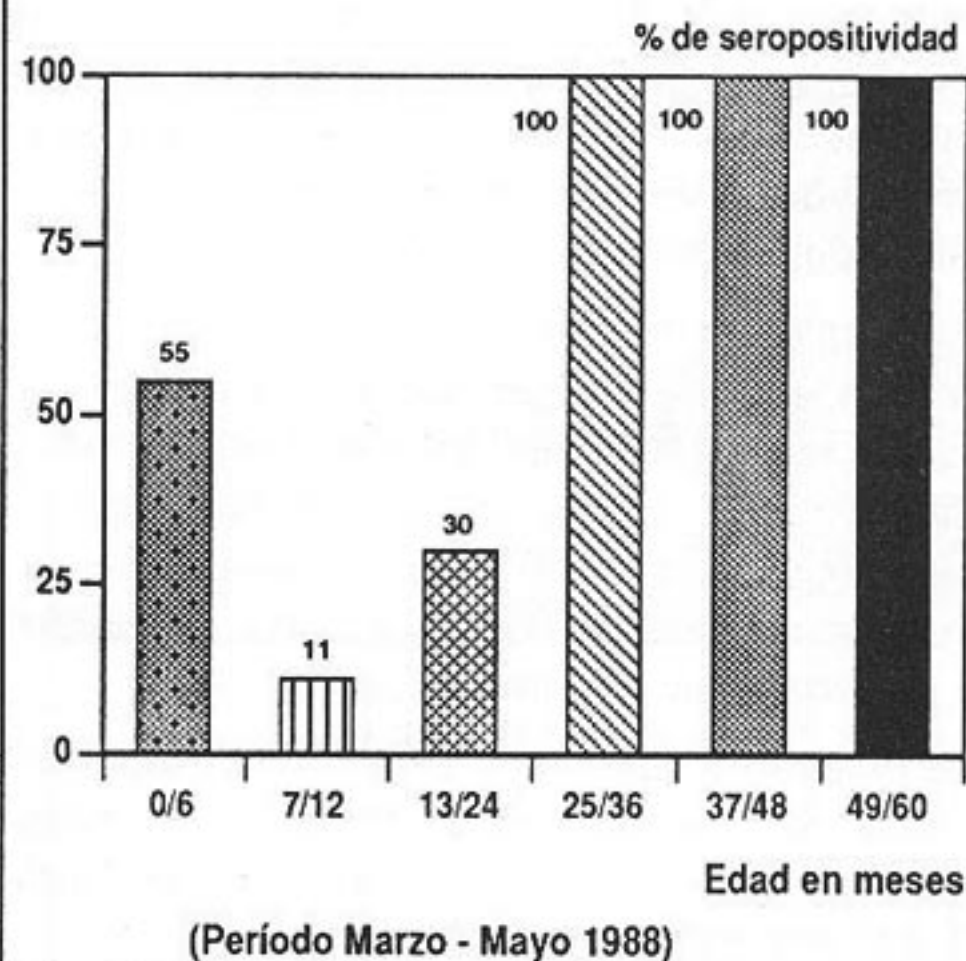
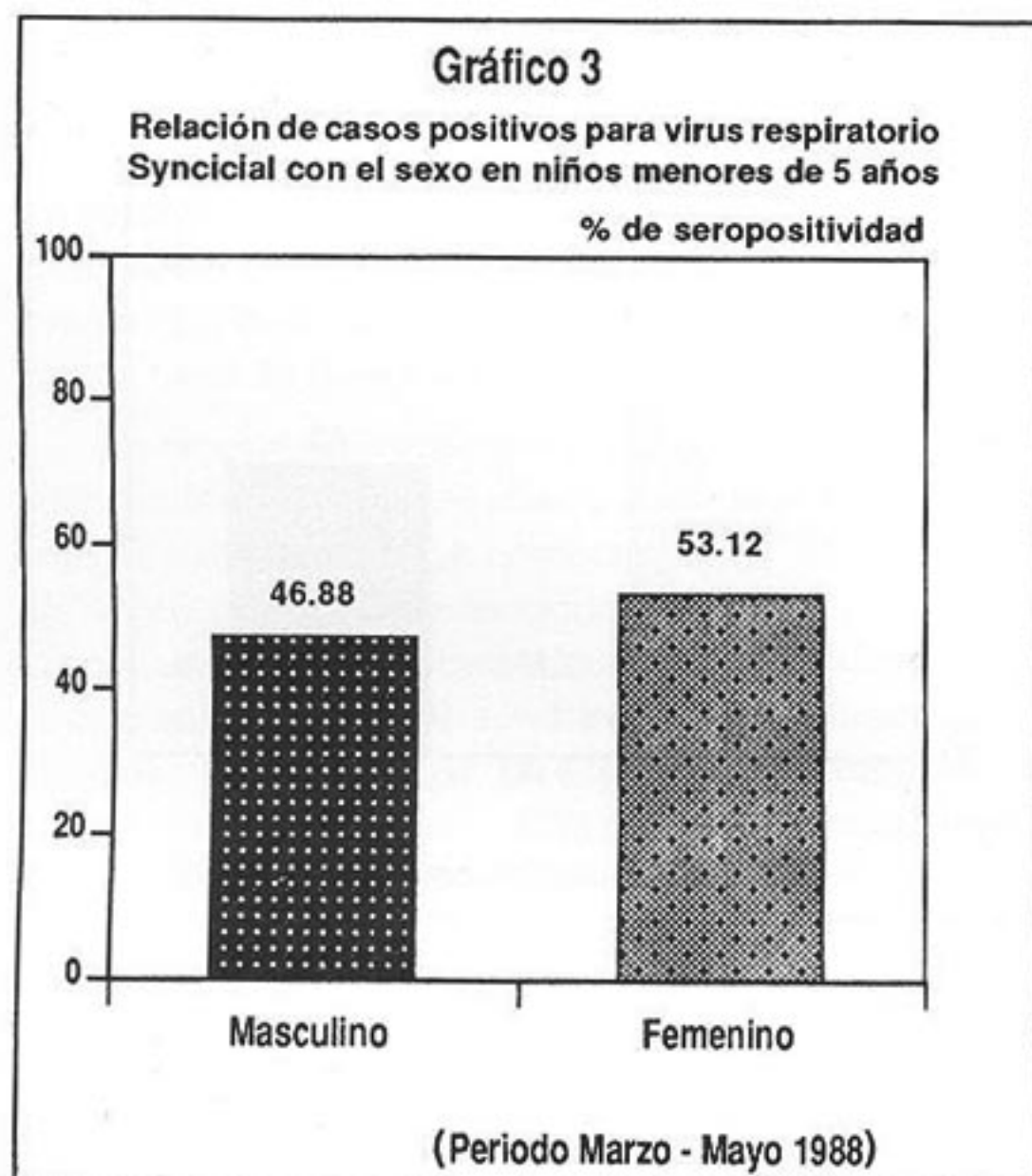


Gráfico 2

Presencia de anticuerpos de virus respiratorio Syncicial por grupos etáreos en niños menores de 5 años



En el GRAFICO N° 3 se relacionan los casos seropositivos para VRS con el sexo. Se observa que en el sexo femenino de 23 casos estudiados, 17 fueron seropositivos, significando un 53.12% y en el sexo masculino, de 33 casos estudiados, 15 resultaron seropositivos, representando un 46.88%.



DISCUSION

Desde que el VRS fue aislado por primera vez en el año 1956, se ha podido comprobar su asociación con enfermedades del tracto respiratorio bajo, que afectan mayormente a la población infantil en diversas partes del mundo (4).

El estudio de la prevalencia de anticuerpos contra VRS en muestras de población infantil de Maracaibo, resultó bastante complejo debido a una serie de factores que influyen en la recopilación de información; ya que hasta ahora en nuestro país no se han realizado estudios serios de esta índole que sirvan de base para esta investigación.

Los resultados obtenidos en otras investigaciones realizadas reportan que el 100% de los niños durante los primeros 5 años de vida, poseen anticuerpos contra VRS (3).

En una investigación realizada en Rusia, el 50% de los niños estudiados fueron seropositivos (9).

Lo obtenido en nuestro trabajo demuestra una alta prevalencia de anticuerpos séricos contra VRS en nuestro medio (57%), aunque inferior al porcentaje obtenido en Estados Unidos; esto se debe a que probablemente en USA durante la época de invierno, los individuos tienden a hacinarse en lugares cerrados, lo que induce a pensar que el virus es fácilmente transmisible de un miembro a otro de la familia. En algunos casos los niños re infectados, miembros de la familia o de la comunidad, sirven como elemento vector de infecciones para el resto de la población infantil susceptible. En Venezuela no tenemos este período de invierno, sin embargo las bajas condiciones socioeconómicas que presentan los pacientes estudiados, nos induce a pensar que estos viven en condiciones de hacinamiento; de allí el alto porcentaje de seropositividad obtenido.

Con respecto al porcentaje de seropositividad por grupos etáreos tenemos que en Pennsylvania, USA, Mc Clellan y colaboradores encontraron que en niños cuyas edades comprendidas entre 6 y 11 meses, hubo un 6% de seropositividad para VRS y en niños mayores de 1 año, un 16% de seropositividad (4).

En Manchester, Inglaterra, el 38 a 41% de niños en edades comprendidas entre 7 meses y 2 años, tienen anticuerpos (4).

En Londres, Inglaterra el 8% de niños entre 6 a 12 meses; el 38% de niños entre 1 a 2 años tienen anticuerpos (4).

Estudios seroepidemiológicos efectuados en Estados Unidos y Japón, han revelado que en niños entre 1 y 2 años de edad, del 50% al 75%, tienen anticuerpos circulantes contra el VRS y niños de 4 años de edad por lo menos de 53% al 93%, han desarrollado anticuerpos (1).

Nuestros resultados guardan relación con lo obtenido en las anteriores investigaciones; ya que se observa un elevado porcentaje de anticuerpos séricos contra el virus (55%), en edades comprendidas entre 0 y 6 meses. Esto se debe probablemente a la presencia de anticuerpos maternos, además de los que ya se han formado en el individuo por el mismo proceso de infección viral.

Se conoce que los anticuerpos contra VRS aparecen temprano en la vida del individuo. Se han detectado anticuerpos maternos en niños hasta los 4 meses disminuyendo su aparición en los próximos meses de vida (4).

También se aprecia una disminución de los títulos de anticuerpos entre 7 y 12 meses (11%), con un relativo aumento a partir de los 13 meses (30%), el cual puede persistir a lo largo de la vida del individuo, quizás mantenido por reinfecciones las cuales se tornan leves.

Una de las características importantes de la enfermedad, es que la reinfección ocurre muy frecuentemente en ausencia de cambios antigénicos significativos, ya que la presencia de anticuerpos no confiere inmunización total.

Otro dato significativo es el hecho de que la técnica utilizada en esta investigación es más sensible y específica que otros métodos utilizados (fijación de complemento, Elisa, etc.), ya que tiene un 92% de sensibilidad para especímenes positivos y un 94% de sensibilidad para especímenes negativos.

En cuanto al sexo, en las bibliografías revisadas, no se encontró ninguna relación entre el sexo del paciente y la prevalencia de anticuerpos, sin embargo en esta investigación notamos que a pesar de ser mayor la población masculina estudiada, el porcentaje de seropositividad fue menor (46,8%) con respecto al sexo femenino (53,2%).

Para establecer la relación entre prevalencia de anticuerpos y el sexo del paciente, es necesario realizar estudios posteriores con mayor número de pacientes donde se tome en cuenta el sistema inmunológico de éstos.

RECOMENDACION

Debido a que nuestro trabajo constituye un inicio en el estudio de los anticuerpos séricos contra VRS en nuestro medio, se hacen indispensables estudios subsecuentes para completar y ampliar la información.

Cabe destacar que realizando estudios seroepidemiológicos longitudinales desde la temprana infancia, tomando muestras en fase aguda y convaleciente de la enfermedad, podremos entender mejor la inmunidad producida contra las infecciones del VRS.

AGRADECIMIENTO

Al personal médico y de enfermería que laboran en los Servicios de Pediatría de los Hospitales: Universitario, Chinquiquirá, General del Sur; Hospital de Niños y Centro Materno Infantil "Raúl Leoni".

Nuestro reconocimiento a la Lic. Linda Blitz de Dorfman, Lic. Diana Callejas, Bio. Hugo Hernández; al Personal Técnico de la Sección de Virología, del Instituto de Investigaciones Clínicas de la Facultad de Medicina especialmente al Dr. Florencio Añez.

Agradecemos al Dr. Ferdinando Liprandi del IVIC y al personal bibliotecario de este Instituto.

A la Sra. Lisbeth Portillo nuestras gracias por su valiosa colaboración.

BIBLIOGRAFIA

1. BELSE, R.; BERNSTEIN, J. and DANSBY, K. (1984). *Respiratory Syncytial Virus*. Textbook of Human virology Company IWC. Littleton. Masachusset. 361-377.
2. BRACHO, D. (1985). *Manual de Inmunodiagnóstico. Fundamentos y aplicaciones*. EDILUZ. Universidad del Zulia. 15-16.
3. CATE, T.R. (1986). *Respiratory tract Infections in Virology in Medicine*. Ed by Henry Rothschild & Craing Cohen. Oxford University. Press, New York. 119.
4. DOGGETT, J. (1965). *Antibodies to Respiratory Syncytial Virus in Human Sera from Different Regions of the World*. Bull. Org. Mond. Santé; Bull. Wld. Hlth Org. 32: 849-853.
5. HALL, C.B. (1987). *Respiratory Syncytial Virus in Principles and Pratices of Clinical Virology*. Edited by A.J. Zuckerman. L.E., Banatvalia and J.R. Pattison; John Wiley & Sons. 239-249.
6. JONHSON, K.M.; BLOOM, H.H.; MUFSON, M.A. and CHANOK, P.M. (1962). *Natural reinfection of adults by Respiratory Syncytial Virus. Possible relation to mild upper Respiratory Disease*. N. Engl. J. Med. 267: 68-72.
7. KAUL, A.; SCOTT, R.; GALLANGHER, M.; SCOTT, M.; CLEMENT J. and OGRA P. (1978). *Respiratory Syncytial Virus Infection*. Am I Dis Child. 132: 1088-1090.
8. POTHIER, P.; NICOLAS, J.C.; DE SAINT MAUR, G.P.; GHIM, S.; KASMIERCZAK, A. and BRICOUT, F. (1985). *Monoclonal Antibodies Against Respiratory Syncytial Virus and their use for rapid detection of Virus in Nasopharyngeal Secretions*. J Clin Microbiol. 21: 286-287.
9. YANKEVICH, O.D.; DREINZIN, R.S.; MAKHLINOVSKAYA, N.L.; GRODNITSKAYA (1976). *Viraemia in Respiration Virus Infection (In Russian)*. Abstrat on Hygiene. 51: 996.

Laboratorio Bártoli

Domingo Bártoli
Director

**Avenida La Estrella, Edif. Ulises, P.B.,
San Bernardino, Caracas**
Teléfonos: 52.17.06 - 52.12.79