



## Artículo Original

# Detección molecular de Virus Influenza A y B en niños menores de 2 años en la ciudad de Resistencia-Chaco en el período 2014-2016

Pontón, Giuliana I.; Luqui, Osvaldo; Urquijo, María C.; Del Puerto, Alexia.; Marín, Héctor M.; Sotelo, Ailín A.; Deluca, Gerardo D.

## RESUMEN

La infección respiratoria aguda (IRA) es la patología más frecuente a lo largo de la vida de una persona y es la causa más común de morbi-mortalidad en menores de 5 años. El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de infección por Virus Influenza A (FluA) y por Virus Influenza B (FluB) en pacientes menores de 2 años con diagnóstico presuntivo de IRA en una ciudad capital del norte argentino (Resistencia, Chaco) por métodos moleculares. Se analizaron aspirados nasofaríngeos correspondientes a 1210 niños durante el período 2014-2016. Los mismos fueron testeados por PCR en tiempo real, hallándose FluA en el 4,13% y FluB en el 1% del total de muestras estudiadas. La mayor concentración de positivos se observó en los meses de mayo-agosto para FluA y agosto-septiembre para FluB, períodos en los que se detectaron el 76% y 75% del total de casos, respectivamente. El virus de la influenza A se presentó como único agente involucrado en el 76% de los infectados y FluB en el 66,7 %, correspondiendo el resto a infecciones concomitantes con otros virus como el Virus Sincicial Respiratorio, Rinovirus, Adenovirus y Bocavirus humano. Las técnicas moleculares permiten el diagnóstico concomitante de varios microorganismos en una misma prueba, de manera rápida y confiable. Este trabajo, aporta datos epidemiológicos de una cohorte en general no estudiada, como es la de pacientes de la consulta privada; además, analiza, discute y profundiza el debate sobre la utilidad del diagnóstico etiológico de los patógenos respiratorios.

**Palabras clave:** Virus Influenza A, virus Influenza B, infecciones respiratorias altas, IRA.

## Resumo

A infecção respiratória aguda (IRA) é a patologia mais freqüente ao longo da vida de uma pessoa e é a causa mais comum de morbidade e mortalidade em crianças menores de 5 anos de idade. O objetivo deste estudo foi determinar a freqüência de infecção do vírus Influenza A (FluA) e B (FluB) em pacientes com menos de 2 anos de idade com um diagnóstico presuntivo de IRA em uma capital do norte da Argentina (Resistencia, Chaco) por métodos moleculares. As aspirações nasofaríngeas correspondentes a 1210 crianças foram analisadas durante o período 2014-2016. Eles foram testados por PCR em tempo real, se achando FluA em 4,13% e FluB em 1% das amostras totais estudadas. A maior concentração de positivos foi observada nos meses de maio a agosto para FluA e agosto-setembro para FluB, períodos em que 76% e 75% dos casos totais foram detectados, respectivamente. O vírus da gripe A foi apresentado como o único agente envolvido em 76% de infecção e FluB em 66,7%, o restante correspondendo a infecções concomitantes com outros vírus, como vírus respiratório sincicial, Rinovírus, Adenovírus e Bocavírus humano. As técnicas moleculares permitem o diagnóstico concomitante de vários microorganismos no mesmo teste, de forma rápida e confiável. Este trabalho não só fornece dados epidemiológicos sobre uma coorte em geral não estudada, como a dos pacientes na prática privada, mas também analisa, discute e aprofunda o debate sobre a utilidade do diagnóstico etiológico de patógenos respiratórios.

**Palavras-chave:** Vírus da gripe A, vírus da gripe B, infecções respiratórias altas, IRA.

## Abstract

Acute respiratory infection (ARI) is the most frequent pathology along human life, being the most common cause of morbidity and mortality in children under 5 years old. The aim of this study was to determine the frequency of Influenza A (FluA) and Influenza B (Flu B) viruses in infants under 2 years old with symptoms of ARI from north Argentina (Resistencia, Chaco; Argentina). The study was performed on nasopharyngeal aspirates of 1210 patients for the year 2014-2017. The samples were tested by real time PCR and the frequency detected was 4,13% for FluA and 1% for FluB. The period with the major detection report was May-August for FluA and August-September for FluB, periods in which 76% and 75% of total positive cases were detected, respectively. Influenza A virus was observed as a unique infection in 76% of the cases and FluB in 66,7%. The main mixed infection detected were with Respiratory syncytial virus, Rhinovirus, Adenovirus and Human bocavirus.



This work not only emphasize the importance of generate epidemiology reports of respiratory virus of patients from de private clinical consult, but also analyze the relevance of the accurate etiology diagnosis of these infections for a better treatment and following.

**Key-words:** Influenza A virus, Influenza B virus, upper respiratory infections, ARI.

## INTRODUCCION

Las infecciones respiratorias agudas (IRA), tanto virales como bacterianas, reflejan la mayor causa de hospitalización en todas las edades y se encuentra dentro de las primeras 5 causas de muerte en niños menores de un año en Argentina <sup>(1)</sup>. El comportamiento de estas patologías es principalmente estacional, concentrándose su morbi-mortalidad en el período invernal, meses en los cuales se transforma en el principal motivo de consulta e internación de niños menores de 5 años <sup>(1)(2)</sup>. Dentro de esta población, los diagnósticos principales son la neumonía y la enfermedad tipo influenza, seguidas de bronquitis y bronquiolitis, siendo los virus los principales responsables <sup>(3)(4)(5)</sup>. Es, sin duda, uno de los problemas de salud pública más importantes en la población infantil y particularmente en los niños con menos de 24 meses de vida <sup>(2)(6)</sup>. En estos casos, la indicación de tratamiento antibiótico empírico resulta una práctica habitual, tanto en las salas de emergencia como en la consulta ambulatoria, aún en ausencia de un diagnóstico de certeza <sup>(7)</sup>. Si bien se han desarrollado reglas de predicción clínica de gran valor para diferenciar infecciones de etiología viral y bacteriana en niños con síntomas de IRA, no siempre resultan suficientes y eficientes para determinar una conducta quimioterápica adecuada <sup>(8)</sup>. En este sentido, el diagnóstico etiológico empleando métodos de laboratorio rápidos y confiables, como las técnicas de biología molecular, resultan cada vez más útiles en la práctica médica diaria <sup>(9)(10)</sup>. La identificación de certeza del agente patógeno involucrado permite restringir la utilización innecesaria de antibióticos como tratamiento de rutina, con el consiguiente impacto en la disminución de efectos adversos, resistencia bacteriana y costos para el sistema de salud año <sup>(11)(12)(13)</sup>. La mayoría de las muertes por enfermedades respiratorias ocurren antes del de edad, especialmente entre los 2 -3 primeros meses de vida y se estima que el 60% de los niños menores de 1 año y el 50% de los menores de 5 años, padecen al menos un episodio de IRA en el transcurso de un año <sup>(1)(2)</sup>.

Los microorganismos más frecuentemente asociados a IRA son: Virus Sincicial Respiratorio (VSR), Adenovirus (ADV), Virus Influenza A y B (FluA, FluB), Virus Parainfluenza 1, 2 y 3 (PIV1, PIV2, PIV3), Metapneumovirus humano (hMPV), Bocavirus humano (hBoV), Rinovirus humano (HRV) y *Mycoplasma Pneumonie* (Mypn) <sup>(4)(5)(11)</sup>. Para ninguno de los virus mencionados, con excepción de los virus influenza, existen vacunas o antivirales de probada eficacia <sup>(14)</sup>.

El Laboratorio de Aplicaciones Moleculares de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), realiza desde el año 2014, un minucioso trabajo epidemiológico de observación de la circulación de virus respiratorios en niños menores de 2 años de la consulta privada, con diagnóstico presuntivo de IRA, de la ciudad de Resistencia-Chaco. El estudio contempla además, el seguimiento estacional y de comportamiento epidemiológico de virus que actualmente no están incluidos en el sistema de vigilancia de virus respiratorios de la Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud del Ministerio de Salud de la Nación (Argentina) <sup>(1)</sup>. El presente informe, detalla en forma particular el comportamiento observado de los Virus Influenza A e Influenza B en menores de 2 años con IRA, para el período epidemiológico 2014-2016 en Resistencia, Chaco (Argentina).



### **Materiales y Métodos:**

Se realizó un estudio de tipo transversal, observacional y descriptivo, con muestreo no probabilístico por conveniencia en 1210 muestras de aspirados nasofaríngeos (ANF) de niños menores de 2 años, con diagnóstico presuntivo de IRA de la ciudad de Resistencia, Chaco, Argentina. Los ANF se colectaron de enero a diciembre de los años epidemiológicos 2014, 2015 y 2016 y fueron obtenidos de pacientes que concurren a una de las principales clínicas de atención pediátrica privada de la ciudad. El material de muestra de cada niño participante fue obtenido en las instalaciones de un laboratorio privado de la ciudad de Resistencia en el caso de los pacientes ambulatorios y por personal de enfermería y/o kinesiólogos en los pacientes internados. En todos los casos se procedió a partir de la orden médica correspondiente, con pedido explícito de estudio molecular para diagnóstico etiológico de patógenos respiratorios. Para cada paciente, se solicitó la autorización de los padres y/o tutores para la utilización de una alícuota de la muestra de ANF (obtenida para fines diagnósticos en el laboratorio particular mencionado) a los fines del presente trabajo, resguardando la identidad de los menores en todo momento. Los resultados del presente estudio se manejaron de manera anónima e independiente y se enmarcaron dentro de las pautas de un trabajo epidemiológico de investigación. En relación a las normas éticas correspondientes, el estudio se encuentra aprobado por la Comisión de Ética del Instituto de Medicina Regional de la UNNE.

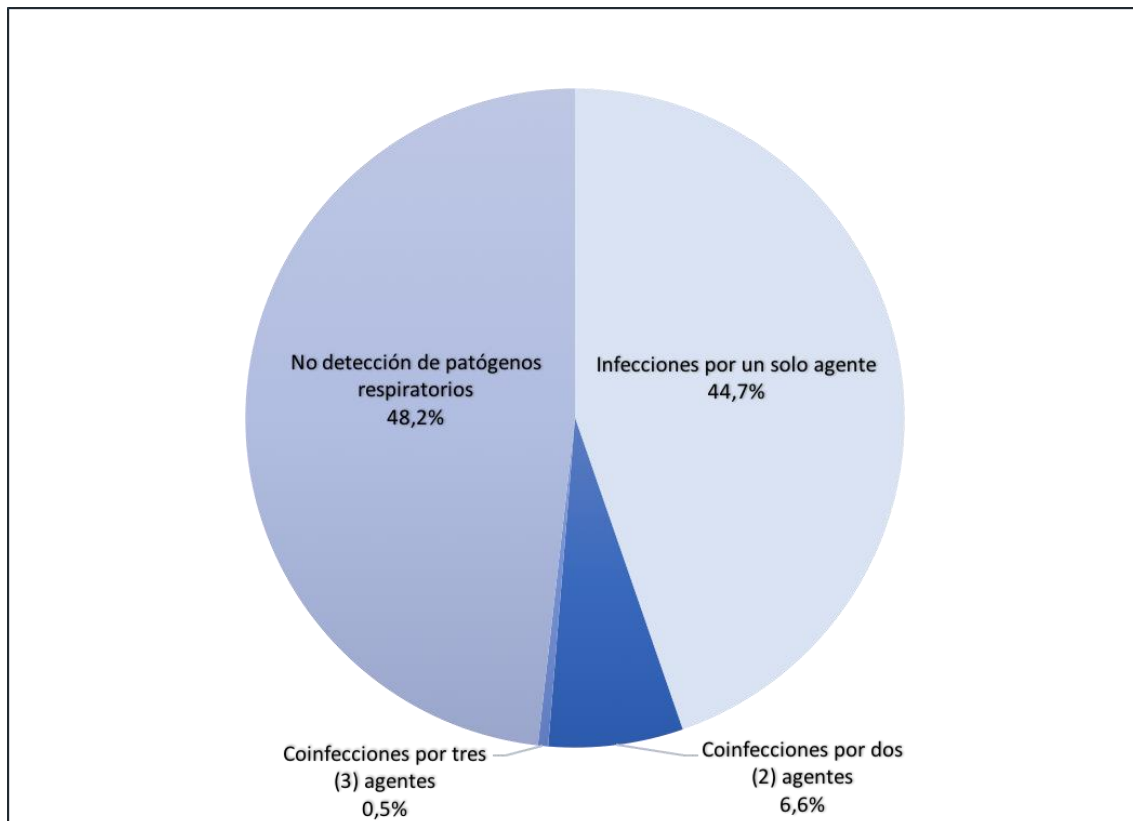
La detección de FluA y FluB en los ANF se realizó mediante PCR en tiempo real (qPCR) empleando sondas de hidrólisis (Taqman®). Para esto, se utilizó una metodología de detección cualitativa desarrollada a partir de los trabajos de varios investigadores <sup>(15)(16)(17)(18)</sup>. Esta técnica, optimizada en formato de *paneles multiplex*, puede detectar de manera simultánea varios microorganismos causantes de patologías respiratorias agudas, permitiendo identificar tanto infecciones individuales como mixtas. El protocolo de qPCR para los dos agentes que se informan en el presente estudio, corresponden a desarrollos realizados por el Center for Diseases Control (CDC; Atlanta, EEUU) <sup>(15)</sup>. Los ácidos nucleicos (ARN y ADN) virales y bacterianos se extrajeron a partir de la alícuota conservada de ANF mediante kit comercial de columnas (High Pure Viral Nucleic Acid kit®, Roche), siguiendo las especificaciones del fabricante. La retrotranscripción se realizó con transcriptasa reversa IMPROM® (Promega, EEUU), según especificaciones del fabricante. Para la qPCR se empleó mix de reacción de cinética rápida, KAPA Probe Fast qPCR Kit Master Mix (2X) Universal (Kapa Biosystems, EEUU) en un equipo ECO® Illumina de 4 canales. Las reacciones de qPCR se realizaron en un volumen final de 10µL y se utilizaron controles positivos secundarios para todos los agentes estudiados por cada ensayo realizado. La totalidad de las muestras fueron testeadas a fin de evaluar la integridad de los ácidos nucleicos (RNAsa-P). La información de los casos estudiados se volcó, junto con los resultados obtenidos, en una planilla de cálculo confeccionada para ese fin y se procedió al análisis estadístico mediante el programa PAWS Statistics de IBM versión 18.0.

### Resultados:

Se recolectaron y procesaron 1210 muestras viables de niños menores de 2 años con diagnóstico presuntivo de IRA entre los meses de enero a diciembre de los años 2014, 2015 y 2016. Para esta serie, en el análisis estadístico no se discriminó entre pacientes internados y ambulatorios, pero del total de muestras testeadas, el 30% correspondió a niños que requirieron internación. El período que concentró la mayor cantidad de pedidos diagnósticos de patógenos respiratorios comprendió los meses de mayo-septiembre, en el que se recolectó y procesó el 70% (846/1210) del total de los ANF analizados. A su vez, los meses de junio y julio fueron los de mayor concentración de solicitudes médicas, con el 40,5% del total de pedidos (490/1210).

Se observó presencia de al menos un agente productor de IRA en el 51,8% (627/1210) de los casos estudiados. En la figura 1, se aprecia la distribución de infecciones simples y múltiples de la serie estudiada.

**Figura 1:** Distribución de resultados de 1210 muestras de aspirados nasofaríngeos de niños menores de 2 años con diagnóstico presuntivo de IRA<sup>1</sup>, estudiados por qPCR múltiple. La totalidad de los casos de la serie corresponde a pacientes de la consulta privada de la ciudad de Resistencia, Chaco (Argentina); período 2014-2016.

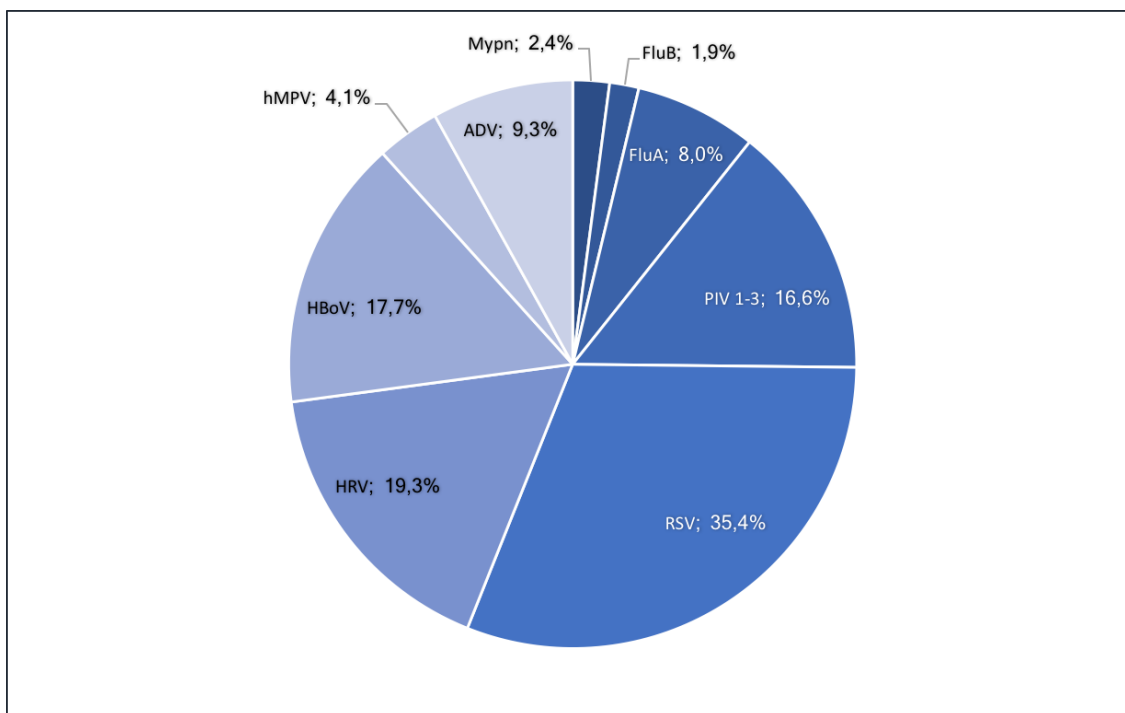


<sup>1</sup> Infección respiratoria aguda.



La presencia de FluA fue del 4,13% (50/1210) en el total de muestras estudiadas; 3,8% en 2014 (15/394), 3,0% en 2015 (10/329) y 5,1% en 2016 (25/487). El virus de la influenza B representó el 1% (12/1210) del total de infecciones detectadas; 1,5% en 2014 (6/394), 1,8% en 2015 (6/329), no registrándose casos en 2016. Si se considera la distribución proporcional de estos dos agentes sobre los 627 casos positivos de patologías respiratorias detectadas, las infecciones por FluA correspondieron al 8% (50/627) del total y las de FluB al 1,9% (12/627) (Figura 2).

**Figura 2:** Distribución proporcional de agentes respiratorios en 627 casos con detección positiva de ácidos nucleicos detectados en la serie estudiada de 1210 niños menores de 2 años con diagnóstico presuntivo de IRA<sup>1</sup>, en Resistencia, Chaco (Argentina). Período 2014-2016.



<sup>1</sup>Infección Respiratoria Aguda. Mypn: *Mycoplasma pneumoniae*; FluA: Virus influenza A; FluB: Virus Influenza B; PIV: Virus parainfluenza (1-3); RSV: Virus sincicial respiratorio; HRV: Rinovirus humano; hBoV: Bocavirus humano; hMPV: Metapneumovirus humano.

También se observa que la ocurrencia de casos positivos para estos agentes, es mayor en el segmento de 6-24 meses de vida (FluA: 5,9%; FLUB: 1,9%) que en menores de 6 meses (FluA: 2%; FluB: 0,2%). En relación a la distribución de casos considerando la época del año, FluA es más frecuente en los meses de mayo-agosto, período en el que se detectó el 76% (38/50) de los mismos, y FluB en agosto-septiembre, meses en los que se observó el 75% (9/12) de los casos positivos.



El virus de la Influenza A se identificó como único causante de la afección respiratoria en el 76% de los positivos detectados (38/50), acompañado por VSR en un 14% (7/50), por hBoV o ADV en un 6% (3/50) y en coinfecciones con HRV+hBoV o ADV+VSR en un 2% (1/50). En relación a FluB, se presentó en infecciones simples en el 66,7% (8/12) de los casos, junto a hBoV en el 25% (3/12) y en un caso se asoció a hMPV.

### **Discusión y conclusiones**

La enfermedad respiratoria aguda sigue siendo la principal causa de muerte en niños en todo el mundo, especialmente en países en vías de desarrollo. Sin embargo, a pesar de su impacto, frecuencia y severidad, la información sobre su etiología sigue siendo limitada y los sistemas públicos de registro y vigilancia tardan años en incorporar los nuevos patógenos descubiertos, así como aquellos que generan reemergencias. Sin duda, los estudios epidemiológicos y el diagnóstico de las patologías respiratorias de origen vírico han dado un giro rotundo a partir del desarrollo de las metodologías moleculares de detección genómica <sup>(10)(19)(20)</sup>. Hace no más de 15 años, las infecciones virales del tracto respiratorio eran frecuentemente diagnosticadas sólo por la clínica, y al no contar éstas con tratamiento específico, no se veía la necesidad médica de profundizar en el diagnóstico etiológico <sup>(11)(12)(21)(19)</sup>. Sin embargo, esta realidad ha ido cambiando y tiende a una mayor evolución, teniendo en cuenta las numerosas ventajas que aporta el diagnóstico molecular de múltiples microorganismos de manera simultánea y a partir de una misma muestra <sup>(12)(20)(22)</sup>.

Podemos mencionar como ejemplos: 1) la importancia de la identificación específica del Virus Influenza H1N1 en la epidemia mundial de 2009 para diferenciarlo de la gripe estacional y poder hacer el tratamiento con Oseltamivir; 2) la utilidad de un diagnóstico diferencial de ADV para proceder al aislamiento de los pacientes y evitar el contagio horizontal en salas de internación; 3) probar la ocurrencia o no, de infecciones mixtas virales-bacterianas para decidir la instauración de terapia antibiótica; 4) evitar la instauración de largos tratamientos antibióticos que favorecen la aparición de cepas bacterianas resistentes en los casos de infecciones virales puras o 5) la importancia de diagnosticar e informar la epidemiología de nuevos virus re-emergentes como el hMPV, HRV o hBoV, que pueden ser causa de IRA <sup>(6)(21)(23)(24)(25)(26)</sup>.

Nuestro trabajo muestra una frecuencia de infección general por FluA de alrededor del 4%, que escala a un 5% si sumamos los casos de FluB en menores de 2 años, un porcentaje similar al hallado por otros trabajos <sup>(27)(28)(30)(31)(32)</sup>. Si bien es cierto que la frecuencia de cada año depende en gran medida del impacto de las campañas de vacunación, en nuestro caso la frecuencia de FluA aumentó en el año 2016, coincidiendo con datos del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de Virus Respiratorios, que publicó un incremento en la circulación de FluA H1N1 en todo el territorio nacional <sup>(29)</sup>.

Nuestra serie muestra una clara estacionalidad para FluA en menores de 2 años entre los meses de mayo-septiembre, período que concentró más del 71% de los casos hallados y se separa claramente de la ocurrencia de casos de FluB, cuyo pico estacional se dio en el bimestre agosto-septiembre. Este dato epidemiológico es particularmente importante, dado que en la práctica médica de rutina se suele referir, de manera no discriminada y genérica a casos de Influenza, siendo que ambos agentes pueden tener pronósticos distintos en la evolución de los casos y el pico de FluB es esperable que aparezca más tardíamente durante la época invernal <sup>(30)(31)</sup>.



También, observamos que FluA se presentó como una infección única en el 76% del total de casos, estando en el 24% restante acompañado por uno o dos agentes virales más, particularmente por VSR. La infección mixta por FluA+VSR está documentada y claramente puede agravar el curso de la patología<sup>(32)(33)</sup>. Ciertamente, un punto a destacar y que también se desprende de este tipo de estudios, es el hecho de que las infecciones virales respiratorias cursan en un porcentaje importante como infecciones mixtas<sup>(25)</sup>. Esto puede parecer superfluo y/o evidente, pero en la práctica médica diaria, todavía es frecuente observar solicitudes diagnósticas de agentes virales en forma individual, lo cual muchas veces impacta en un diagnóstico tardío e inoportuno, o en el peor de los casos, no se llega al diagnóstico etiológico y se trata de manera empírica. Los virus respiratorios generan infecciones autolimitadas que suelen remitir, como media, entre dos o tres semanas post-infección. Lo que ocurre con el paciente en ese tiempo, la gravedad de las secuelas y los costos de atención sanitaria, dependen en gran medida de un diagnóstico rápido, eficiente y oportuno. Todavía no se cuenta con un abanico amplio de terapia antiviral; sin embargo, solo evitar la instauración innecesaria de antibióticos, justifica el empleo de técnicas diagnósticas rápidas y altamente eficientes para detectar el agente involucrado<sup>(34)</sup>. Además, en el caso de infecciones virales puras, la detección etiológica del/los patógeno/s involucrado/s, permite contemplar tempranamente conductas de sostén y seguimiento clínico que garanticen una evolución más favorable y confortable del niño. Deberíamos, en este contexto, y en base a las evidencias experimentales, estimular y difundir la utilización de paneles amplios de detección virales-bacterianos mediante técnicas moleculares. Esto es absolutamente posible en la actualidad, teniendo en cuenta que gran parte de los principales centros sanitarios, tanto públicos como privados, cuentan con tecnologías de PCR en tiempo real. Sería una tarea de los centros de investigación y desarrollo, transferir este *know-how* una vez validadas las metodologías o estimular la adquisición de kits comerciales disponibles en el mercado local.

Por otro lado, un dato no menor es que el presente estudio se centró en el análisis epidemiológico de niños con diagnóstico presuntivo de IRA, atendidos en la consulta privada. Esto complementa los datos aportados por el Sistema Nacional de Vigilancia de Virus Respiratorios de la Dirección Nacional de Epidemiología, que en mayor medida refleja los resultados de pacientes atendidos en el sistema sanitario público y cuyos datos se informan a través del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SIVILA). En este sentido, también se insta al sector privado de la salud, a aportar información por este canal y sumar datos que mejoren la representatividad de la información epidemiológica.

Este trabajo intenta, por un lado, generar un aporte a los datos epidemiológicos locales sobre FluA y FluB en niños menores de 2 años con IRA, y por otro, difundir y estimular la utilización de mejores técnicas diagnósticas, que permitan un manejo más efectivo, oportuno y basado en evidencias en el tratamiento y seguimiento de los pacientes con afectaciones respiratorias agudas.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Uez O, Rico Cordeiro O, Kuznier G. Manual para el fortalecimiento de la vigilancia de la enfermedad tipo Influenza utilizando la estrategia de Unidades Centinelas de Infecciones Respiratorias Agudas Graves (IRAG). Buenos Aires: Ana María Cabrera editora. Ministerio de Salud de la Nación con el apoyo de la Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS); 2011. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/epidemiologia/pdf/manual-uceti.pdf>
2. Dirección de Epidemiología, Ministerio de Salud de la Nación. Abordaje Integral de las Infecciones Respiratorias Agudas. Guía para el Equipo de Salud N°6. 2º Edición. Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación (Argentina); 2011. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/epidemiologia/pdf/enf-resp-guia.pdf>
3. Kesson AM. Respiratory virus infections. *Paediatr Respir Rev*. 2007;8(3):240–8.
4. Bezerra PGM, Britto MC, Correia JB et al. Viral and atypical bacterial detection in acute respiratory infection in children under five years. *PLoS One*. 2011;6(4):e18928.
5. Shi T, McLean K, Campbell H et al. Aetiological role of common respiratory viruses in acute lower respiratory infections in children under five years: A systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2015;5(1):1–10.
6. Pavia AT. Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses, new viruses, and the role of diagnosis. *Clin Infect Dis*. 201;52 Suppl 4:S284–9.
7. Vinelli NF, Mannucci C, Laba NI et al. Consultas no urgentes al Departamento de Urgencias de un hospital pediátrico. *Arch Argent Pediatr*. 2011;109(1):8–13.
8. Moreno L, Krishnan JA, Duran P et al. Development and validation of a clinical prediction rule to distinguish bacterial from viral pneumonia in children. *Pediatr Pulmonol*. 2006;41(4):331–7.
9. Gill PJ, Richardson SE, Ostrow O et al. Testing for Respiratory Viruses in Children: to swab or not to swab. *JAMA Pediatr*. 2017;171(8):798-804.
10. Merckx J, Wali R, Schiller I et al. Diagnostic Accuracy of Novel and Traditional Rapid Tests for Influenza Infection Compared With Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction. *Ann Intern Med*. 2017;167(6):394-409.
11. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(4):716–47.
12. Olofsson S, Brittain-long R, Magnus L. PCR for detection of respiratory viruses: seasonal variations of virus infections. 2011;9(8):615-26.
13. Jartti T, Söderlund-Venermo M, Hedman K et al. New molecular virus detection methods and their clinical value in lower respiratory tract infections in children. *Paediatr Respir Rev*. 2013;14(1):38–45.
14. McKimm-Breschkin JL, Jiang S, Hui DS et al. Prevention and treatment of respiratory viral infections: Presentations on antivirals, traditional therapies and host-directed interventions at the 5th ISIRV Antiviral Group conference. *Antiviral Research*. 2018;149:118-142.
15. Sanghavi SK, Bullotta A, Husain S et al. Clinical evaluation of multiplex real time PCR Panel for rapid detection of respiratory viral infections. *J Med Virol*. 2012;84(1):162–9.
16. Gunson RN, Collins TC, Carman WF. Real-time RT-PCR detection of 12 respiratory viral infections in four triplex reactions. *J Clin Virol*. 2005;33(4):341–4.
17. Thurman K, Warner AK, Cowart KC et al. Detection of Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, and Legionella spp. in clinical specimens using a single-tube multiplex real-time PCR assay. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70(1):1–9.
18. Vos N De, Vankeerberghen A, Vaeyens F. Simultaneous detection of human bocavirus and adenovirus by multiplex real-time PCR in a Belgian paediatric population. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28(11):1305-10.
19. Marcone DN, Carballal G, Ricarte C, Echavarría M. Diagnóstico de virus respiratorios utilizando un sistema automatizado de PCR múltiples (FilmArray) y su comparación con métodos convencionales. *Rev Argent Microbiol*. 2015;47(1):29–35.
20. Huang HS, Tsai CL, Chang J et al. Multiplex PCR system for the rapid diagnosis of respiratory virus infection: systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2017; pii: S1198-743X(17)30649-3.
21. Jartti T, Jartti L, Ruuskanen O et al. New respiratory viral infections. *Curr Opin Pulm Med*. 2012;18(3):271–8.
22. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(4):716–47.
23. Debiaggi M, Canducci F, Ceresola ER et al. The role of infections and coinfections with newly identified and emerging respiratory viruses in children. *Virol J*. 2012;9:247.





24. Bosch ATM, Biesbroek G, Trzcinski K et al. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS Pathog.* 2013;9(1):e1003057.
25. Cawcutt K, Kalil AC. Pneumonia with bacterial and viral coinfection. *Curr Opin Crit Care.* 2017;23(5):385-90.
26. Goriacko P, Saiman L, Zachariah P. Antibiotic Use in Hospitalized Children with Respiratory Viruses Detected by Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Pediatr Infect Dis J.* 2018;37(5):443-46
27. Caballero MT, Polack FP, Stein RT. Viral bronchiolitis in young infants: new perspectives for management and treatment. *J Pediatr (Rio J).* 2017;93 Suppl 1:75-83.
28. Ali A, Akhund T, Warraich GJ et al. Respiratory viruses associated with severe pneumonia in children under 2 years old in a rural community in Pakistan. *J Med Virol.* 2016;88(11):1882-90.
29. Dirección General de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud. Boletín Integrado de Vigilancia N°341, SE 52. 2016. Disponible en: [http://www.msal.gov.ar/images/stories/boletines/boletin\\_integrado\\_vigilancia\\_N341-SE52.pdf](http://www.msal.gov.ar/images/stories/boletines/boletin_integrado_vigilancia_N341-SE52.pdf)
30. Caini S, Alonso W, Séblain C et al. The spatiotemporal characteristics of influenza A and B in the WHO European Region: can one define influenza transmission zones in Europe. *Euro Surveill.* 2017;22(35). pii: 30606.
31. Caini S, Andrade W, Badur S et al. Temporal patterns of influenza A and B in tropical and temperate countries: What are the lessons for influenza vaccination? *PLoS One.* 2016;11(3):1-15.
32. Meskill SD, Revell PA, Chandramohan L et al. Prevalence of co-infection between respiratory syncytial virus and influenza in children. *Am J Emerg Med.* 2016;35(3):495-8.
33. Pinky L, Dobrovolny HM. Coinfections of the respiratory tract: Viral competition for resources. *PLoS One.* 2016;11(5):1-19.
34. Tang JW, Lam TT, Zaraket H et al. Global epidemiology of non-influenza RNA respiratory viruses: Data gaps and a growing need for surveillance. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(10):e320-e326.

## Datos de Autor

### Título

Detección molecular de Virus Influenza A y B en niños menores de 2 años en la ciudad de Resistencia-Chaco en el período 2014-2016

### Autores:

Pontón<sup>1</sup>, Giuliana I; Luqui<sup>1</sup>, Osvaldo; Urquijo<sup>2</sup>, María C; Del Puerto<sup>2</sup>, Alexia; Marín<sup>3</sup>, Héctor M; Sotelo<sup>1</sup>, Ailín A; Deluca<sup>1\*</sup>, Gerardo D

<sup>1</sup> Laboratorio de Aplicaciones Moleculares. Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2001. 3400 Corrientes Capital.

<sup>2</sup> Centro de Estudios Moleculares, Instituto de Análisis. Av. Sarmiento 215, Resistencia Chaco.

<sup>3</sup> Área de Biología Molecular, Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste. Av. Las Heras 727, Resistencia, Chaco.

Título abreviado del trabajo: FluA y FluB en menores de 2 años en Resistencia-Chaco

\*delucagd@outlook.com