



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS
POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA

**Epidemiología molecular del virus sincicial
respiratorio en San Luis Potosí, México**

TESIS QUE PRESENTA

Med. Cir. Daniel Ernesto Noyola Cherpitel

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

Posgrado en Ciencias Biomédicas Básicas
UASLP



DIRECTOR DE TESIS

Dr. Roberto González Amaro

ASESORES

Dr. Flavio Martínez Morales

Dra. Diana Patricia Portales Pérez

JULIO DEL 2007

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Roberto González Amaro, a la Dra. Diana Patricia Portales y al Dr. Flavio Martínez Morales por su apoyo durante estos dos años.

A todos los que, en mayor o en menor grado, de una u otra forma, han colaborado conmigo en el estudio de la epidemiología de las infecciones respiratorias durante los últimos cinco años. Sin su ayuda este trabajo no hubiera sido posible.

**Epidemiología Molecular de las Infecciones por
Virus Sincial Respiratorio en San Luis Potosí, México**

Med. Cir. Daniel Ernesto Noyola,^{1,2} QFB Alba E. Hernández-Salinas,¹
QFB Josefina Sánchez-Alvarado,¹ QFB Benita Ortega-Berlanga,¹
Dr. Roberto González-Amaro,³ Dr. Christian García-Sepúlveda⁴

Departamentos de ¹Microbiología, ³Inmunología y ⁴Biología Molecular,
Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí y

²Departamento de Pediatría, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"
San Luis Potosí, México

* Autor responsable de la correspondencia: Med. Cir. Daniel E. Noyola.

Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de
San Luis Potosí. Avenida Venustiano Carranza 2405. Col. los Filtros. San Luis
Potosí, S.L.P. México 78210.

Tel. (52) 444-826-23-46 ext. 534. Fax. (52) 444-826-23-51

Palabras clave: virus sincial respiratorio, epidemiología molecular, infecciones
respiratorias

RESUMEN

Antecedentes: El virus sincicial respiratorio (VSR) es el agente infeccioso de las vías respiratorias de mayor importancia en la infancia. En México no existe información sobre la epidemiología molecular de las infecciones causadas por este virus.

Objetivos: Describir la epidemiología molecular de las infecciones por VSR en la ciudad de San Luis Potosí y comparar la gravedad de las infecciones causadas por diferentes grupos de VSR.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 113 pacientes menores de 3 años de edad con infección por VSR identificados entre los años 2003 y 2005. Se determinó en cada caso el grupo al que pertenecía el VSR, mediante la reacción en cadena de la polimerasa acoplada a transcripción reversa (RT-PCR). Se comparó la duración de hospitalización entre pacientes con infecciones causadas por VSR del grupo A y B. Se secuenciaron algunos de los productos de amplificación y se efectuó un análisis filogenético.

Resultados: Se detectó la presencia de VSR del grupo A en 70 casos, VSR del grupo B en 35 y co-infección por virus de ambos grupos en 3. En 5 de los casos no fue posible determinar el grupo de VSR causante de la infección. No se observó ninguna diferencia en las características clínicas o la duración de hospitalización entre las infecciones causadas por VSR de los grupos A y B. El análisis filogenético mostró que las cepas secuenciadas pertenecieron a las cladas GA2 y GA5.

Conclusiones: En la ciudad de San Luis Potosí durante las temporadas invernales 2003-2004 y 2004-2005 circularon cepas de VSR de los grupos A y B en forma simultánea. Se detectaron cepas de VSR pertenecientes a las cladas GA2 y GA5 durante este periodo de estudio. La gravedad de las infecciones por VSR no difiere entre aquellas causadas por cepas de los grupos A y B.

INTRODUCCIÓN

Infecciones respiratorias virales. Las infecciones respiratorias (IR) son uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial (1). En México, las IR son la principal causa de morbilidad registrada por las instituciones públicas de salud y de mayor incidencia en la población infantil. En los niños, las IR son la principal causa de origen infeccioso de hospitalización y de muerte hospitalaria (2). En los adultos mayores, el número de hospitalizaciones asociadas a IR aumentaron notablemente de 1985 a 1995 (3). Asimismo, en pacientes con enfermedades crónicas, las IR también representan un grave problema debido a que son responsables de un número importante de hospitalizaciones (3). La principal etiología de las IR en los niños son los agentes virales (4-7), principalmente el virus sincicial respiratorio (VSR). De manera similar este virus juega un importante papel como causa de IR en adultos (8). Sin embargo, la epidemiología de estos agentes infecciosos está pobremente caracterizada en nuestro país. Nosotros hemos estudiado previamente la frecuencia de las infecciones por VSR en pacientes pediátricos que reciben atención en el Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" en la ciudad de San Luis Potosí, así como algunas de sus características epidemiológicas (9).

Virus sincicial respiratorio. El VSR es un virus RNA cuyo genoma codifica para 11 proteínas. Los principales determinantes antigénicos de la superficie del virus son las proteínas G y F. La primera tiene una elevada variabilidad, en tanto que la segunda juega un papel importante en la invasión de las células humanas por el virus (10).

En la resistencia hacia el VSR participan la inmunidad innata y la respuesta inmune adquirida. La síntesis de anticuerpos específicos para los antígenos F y G, no altera la duración de la primoinfección por VSR, pero puede tener un efecto protector

contra infecciones subsecuentes. En contraste, la respuesta inmune celular tiene un papel importante en la eliminación del VSR y es responsable de la terminación de la infección. Por otro lado, se ha sugerido que la respuesta inmune pudiera participar en el daño de las vías aéreas inferiores durante la infección por VSR, además de predisponer al sujeto a padecer episodios repetitivos de broncoconstricción (10).

Incidencia de infecciones por VSR. Las infecciones causadas por el VSR son muy comunes durante la infancia y al cumplir dos años de edad, prácticamente todos los niños han sido infectados al menos una vez por este virus. El 22.4% de los niños pueden padecer de afección de las vías aéreas inferiores, usualmente manifestada como bronquiolitis, durante el primer año de su vida (11).

El VSR es, por lo tanto, el principal agente infeccioso responsable de hospitalizaciones durante los primeros años de vida. En México, se ha reportado que en 24.8 a 40.3% de los niños que requieren de hospitalización por infección respiratoria se detecta la presencia de VSR (9,12-14). Los lactantes con antecedente de prematurez, así como aquellos que presentan enfermedad pulmonar crónica, cardiopatías congénitas o inmunodeficiencias, tienen un mayor riesgo de cursar con infecciones severas por VSR (15).

Aún no se ha determinado cuál es el o los factores que determinan la invasión de vías inferiores por VSR. Sin embargo, se ha encontrado que esta invasión se asocia con menor edad, predominio de la respuesta inmune tipo Th2 y con niveles bajos de anticuerpos anti-VSR (16,17).

Variabilidad genética del VSR. Con base en las características de las proteínas de superficie, particularmente la proteína G, el VSR se clasifica en dos grupos principales,

A y B. La proteína G es la proteína del VSR que muestra mayor divergencia entre los grupos A y B (18). Los distintos grupos y gentipos del VSR se agrupan según sus semejanzas en cladas filogenéticas. Para cada grupo (A y B) de VSR estas diferentes cladas poseen distribuciones geográficas distintas. Las cepas de VSR del grupo A se han agrupado en al menos 7 cladas (GA1-GA7), pero existen reportes de cepas de VSR que no pertenecen a ninguna de estas cladas y que eventualmente podrán ser agrupadas para formar cladas adicionales. La caracterización de diferentes cepas del VSR es de importancia para entender el fenómeno de inmunidad, la generación de vacunas y para el estudio epidemiológico de estas infecciones.

Por otro lado, se ha sugerido que el desarrollo de infecciones graves por VSR pudiese estar asociado con la presencia de cepas de mayor patogenicidad. A este respecto, se ha reportado que cepas del grupo A causan infecciones de mayor gravedad que las cepas del grupo B (19-22).

En México existe un vacío de información sobre la epidemiología molecular de las infecciones por VSR, de sus variaciones geográficas, de sus variaciones en el tiempo, así como su repercusión sobre la salud de la población. El estudio de estas características es de relevancia en la planeación, establecimiento y evaluación de programas preventivos, como sería la vacunación y la administración profiláctica de anticuerpos monoclonales anti-VSR. Los estudios en México sobre infecciones por VSR son pocos (9,12-14,23,24) y sólo en uno se reporta la tipificación de cepas del virus (23). En ese estudio, llevado a cabo hace más de 10 años, se reportó la tipificación con el uso de anticuerpos monoclonales en 21 cepas de VSR aisladas en la ciudad de México de las cuales 19 correspondieron al grupo A y 2 al grupo B.

En vista que el VSR es el principal patógeno respiratorio que afecta a la población pediátrica, consideramos que el estudio de la epidemiología molecular de este virus en

nuestra ciudad proporciona información relevante para la instalación de programas de prevención. Asimismo, la determinación de la patogenicidad y la frecuencia relativa de las infecciones causadas por VSR de los grupos A y B son importantes para el desarrollo de vacunas contra este virus. En México no existe información de los genotipos de VSR que afectan a la población. El propósito del presente trabajo fue el de describir la epidemiología molecular de las infecciones por VSR en la Ciudad de San Luis Potosí y determinar si existe relación entre los diferentes grupos de VSR y la gravedad de las infecciones que causan.

-
.

PACIENTES Y MÉTODOS

Población de estudio. Durante el periodo de estudio (Mayo 2003 a Abril de 2005) ingresaron 734 pacientes menores de 3 años de edad por infección respiratoria al Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, de los cuales 616 fueron incluidos de manera prospectiva en los estudios epidemiológicos de infecciones respiratorias. Las principales características de este grupo de pacientes han sido publicados previamente (14). Se detectó la presencia del VSR en 153 (24.8%) de los sujetos estudiados. De éstos, 33 presentaban alguna enfermedad subyacente por lo que fueron excluidos del estudio. De los 120 pacientes restantes se contó con información demográfica y clínica, así como disponibilidad de muestra de secreciones respiratorias para su análisis en 113 pacientes.

Detección del VSR. Se obtuvieron muestras de lavado nasofaríngeo las cuales fueron trasladadas al Laboratorio de Virología en hielo. Las muestras fueron procesadas mediante centrifugación para obtener una pastilla de células nasofaríngeas las cuales se depositaron en laminillas de pozos múltiples para tinción con anticuerpos monoclonales específicos (Respiratory DFA viral screening and identification kit; Light Diagnostics, Chemicon, Temecula, CA). Las laminillas fueron examinadas en un microscopio de fluorescencia para detectar la presencia de infección por VSR. Los sobrenadantes de las muestras se congelaron a -70° C para su posterior análisis molecular.

Tipificación molecular de VSR. Se determinó el grupo al que pertenecían los aislados de VSR de acuerdo a la amplificación de la segunda región variable del gen de la proteína G. Con este propósito, se aisló el ARN viral de las muestras de aspirado nasofaríngeo utilizando un *kit* comercial (High Pure Viral RNA Kit; Roche Diagnostics, Mannheim,

Germany). Posteriormente, se identificaron los genotipos A y B mediante una reacción en cadena de DNA polimerasa acoplada a transcripción reversa (RT-PCR), como se ha descrito previamente (25,26).

Para la detección de VSR del grupo A, los oligonucleótidos utilizados fueron los siguientes:

positivo: G267 (5'-GATGCAACAAGCCAGATCAAG-3').

negativo: F164 (5'-GTTATCACACTGGTATACCAACC-3').

El tamaño esperado del producto de amplificación fue de 0.9 kb.

Para la detección de VSR del grupo B, los oligonucleótidos utilizados fueron los siguientes:

positivo: BGF (5'-GCAGCCATAATATTCATCATCTCT-3')

negativo: BGR (5'-TGCCCCAGRTTTAATTTTCGTTC-3').

El tamaño esperado del producto de amplificación fue de 0.8 kb.

La transcripción reversa y amplificación del correspondiente cDNA se llevó a cabo mediante un *kit* comercial (Access RT-PCR System, Promega Corporation, Madison, WI), de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Para la tipificación del VSR del grupo A, se utilizó el siguiente programa: la transcripción reversa se realizó a 55° C durante 30 min, la cual fue seguida por una PCR de 40 ciclos con un paso de desnaturalización a 95° C durante 30 seg (el inicial fue de 2 min), otro de alineación a 58° C durante 45 seg y, finalmente, otro de síntesis o extensión a 72° C durante 45 seg; al terminar, se efectuó una extensión final a 72° C durante 5 min.

Para la tipificación del VSR del grupo B se utilizó el siguiente programa: transcripción reversa a 55° C durante 30 min, seguido de una PCR de 40 ciclos con desnaturalización a 95° C durante 30 seg (la inicial fue por 2 min), alineación a 64° C durante 45 seg y extensión a 72° C durante 45 seg, con una extensión final a 72° C durante 5 min. La

identificación de los productos de amplificación se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio y observación bajo luz ultravioleta y digitalización de las imágenes.

Secuenciación. Con el fin de caracterizar de manera detallada las cepas de VSR que detectadas en San Luis Potosí se seleccionaron algunos de los productos de amplificación los cuales fueron secuenciados. El proceso de secuenciación se llevó a cabo en el CINVESTAV Unidad Irapuato. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con secuencias del gen de la proteína G de VSR depositadas en el GenBank.

Alineamientos de las secuencias obtenidas y elaboración de filograma. Se llevó a cabo la alineación de múltiples secuencias nucleotídicas del VSR, tanto aquellas secuenciadas con muestras obtenidas en este trabajo como otras de referencia (n=36) previamente depositadas en GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Las secuencias tomadas de Genbank fueron representativas de la totalidad del globo (Sudamérica, Norteamérica, Europa, África, Asia y Oceanía) así como de diferentes períodos de tiempo. Para ello, las secuencias fueron inicialmente sometidas al algoritmo ClustalW (versión 1.83, www.ebi.ac.uk/clustalw/) para obtener alineamientos múltiples de las secuencias nucleotídicas. Los alineamientos generados por este algoritmo fueron alimentados a la herramienta de reformato de unanimidad del Anthony Nolan Research Institute, HLA Bioinformatics Group (acceso gentilmente ofrecido por James Robinson) con el objeto de resaltar aquellas regiones y motifs que distinguían a cada secuencia. Una vez logrado esto, las secuencias fueron editadas manualmente para seleccionar un fragmento apto de comparación filogenética de 514 nucleótidos. El análisis filogenético de las secuencias fue realizado con ClustalW empleando los alineamientos generados anteriormente para guiar

la construcción del filograma a través del método de Neighbor-joining empleando corrección de distancias (27). La visualización del árbol filogenético se hizo utilizando el programa TreeViewX versión 0.5.0 (Roderic D. M. Page, disponible en: <http://darwin.zoology.gla.ac.uk/~rpage/treeviewx/index.html>).

Análisis estadístico. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS para Windows, versión 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Se compararon las variables categóricas utilizando la prueba de chi-cuadrada y prueba exacta de Fisher, según fuera apropiado. Las variables continuas se analizaron con el uso de la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney. Se llevó a cabo análisis de regresión logística para determinar la asociación independiente de las variables con la duración de la hospitalización (como variable categórica: duración corta y prolongada). Se consideró como una asociación estadísticamente significativa un valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Características de la población de estudio. Algunas de las características de interés de los pacientes estudiados se muestran en el cuadro 1.

Tipificación de aislados de VSR. La identificación del grupo causante de la infección por VSR en cada uno de los casos incluidos en el estudio se llevó a cabo mediante RT-PCR. De las 113 muestras incluidas en el estudio, se logró identificar el grupo del aislado del VSR mediante RT-PCR en 108 muestras (95.6%). En seis de estas muestras, las bandas de los amplicones correspondientes fueron de poca intensidad con los oligonucleótidos específicos para VSR del grupo A, mientras que los resultados fueron negativos para VSR del grupo B. En cinco casos no se lograron amplificar secuencias del VSR correspondientes a los grupos A o B. En 70 (64.8%) de los casos se determinó la presencia de infección causada por VSR del grupo A (6 de ellos en los cuales la banda del producto de amplificación fue tenue), mientras que en 35 (32.4%) la infección fue causada por VSR del grupo B. En 3 casos se detectó la presencia de VSR perteneciente a ambos grupos en la muestra (co-infección con VSR grupo A y B).

Cuando se compararon los resultados obtenidos durante la temporada 2003-2004 (mayo 2003 a abril de 2004) con la temporada 2004-2005 (mayo de 2004 a abril de 2005), se encontró que durante ambas temporadas las infecciones causadas por el VSR del grupo A fueron mas frecuentes. La figura 1 muestra el número de casos de infección por VSR detectados en grupos A y B, de acuerdo al mes y año en que se presentó la infección respiratoria.

Características clínicas de pacientes infectados con VSR de los grupos A y B.

En el cuadro 2 se muestran las características demográficas y cuadro clínico de los pacientes con infección por VSR de acuerdo al grupo viral responsable de la infección. En este análisis no se incluyó los pacientes en los que se detectó la presencia de co-infección por VSR de ambos grupos. No se observó diferencias entre las características de los sujetos de ambos grupos.

Duración de la hospitalización de acuerdo al grupo de VSR causante de la infección. La duración promedio de la hospitalización de los pacientes incluidos en el estudio fue de 4.38 días (rango de 0 a 17 días). En aquellos pacientes con infección por VSR del grupo A y del grupo B la duración de la hospitalización fue de 4 días (mediana). Para determinar otros factores asociados a la duración de la hospitalización, se dividió a los sujetos de estudio en dos grupos: duración corta (duración de la hospitalización fue menor a 4 días) y duración prolongada (4 días o más). En este análisis no se incluyeron a los sujetos en que se detectó co-infección por VSR de ambos grupos. El cuadro 3 muestra las características de los sujetos de acuerdo a la duración de la hospitalización. El único dato clínico en que se observó diferencia entre ambos grupos, fue la presencia de disociación tóraco-abdominal durante la exploración física realizada en la evaluación inicial del paciente; ésta fue más frecuente en aquellos pacientes con hospitalización prolongada.

Dada la diferencia observada entre ambos grupos, así como la posibilidad de interacción de otros factores con la duración de la hospitalización, se efectuó análisis de regresión logística, para determinar la contribución de cada uno de los diferentes factores a la duración de la hospitalización. Para este análisis se incluyeron las siguientes variables: la edad de los pacientes, la temporada invernal en que ocurrió la hospitalización, el grupo

de VSR responsable de la infección, el antecedente de exposición a humo de tabaco y la presencia de disociación tóraco-abdominal. Este análisis demostró que solamente la presencia de disociación tóraco-abdominal al ingreso se asoció a una mayor duración de hospitalización ($p = 0.004$). Es importante mencionar que no se observó ninguna diferencia significativa en las características clínicas y demográficas en los pacientes en los que se identificó el grupo de VSR causante de la infección comparados con aquellos en los que esto no fue posible.

Secuenciación. Se seleccionaron los productos de amplificación de doce muestras los cuales fueron secuenciados (6 de VSR del grupo A y 6 del grupo B). Se obtuvo la secuencia completa en solo tres de las muestras de VSR del grupo A, utilizando el oligonucleótido en sentido positivo. Las secuencias de nucleótidos correspondientes a estas tres muestras fueron las siguientes (la identificación de las muestras se designó como SLP-número de muestra-año):

>SLP-1002-04:

```
tccaatctgtccgaaactacatcacaacccatcaccatactagcttcaacaacaccaagt
gctgagtcacccccacaatccacaacagtcgaagatcaaaaacacaacaacccaatg
caacctagcaaaccaccacaaaacaacgcaaaaacaaaccacaaaacaaaccaataat
gattttcactttgaagtggttcaattttgtaccctgcagcatatgcagcaacaatccaacc
tgctgggccatctgcaaaagaataccaaacaaaaaacctggaaagaaaaccaccaccaag
cccacaaaaaaccaaccatcaagacaacaaaaaagatcccaaacctcaaaccacaaaa
ccaaggaagtactcaccaccaagcccacagaaaagccaacctcaacaccaccaaaaaa
aacatcaaaactacactgctcacctccaacaccacaggaattcagaacacacaagtcaa
aaggaaacctctactcaaccacctccgaaggcaatccaagcccttcacaagtctataca
acatccgagtagctatcacaatctctatctccatccaacacaacaaaatggtagtcatta
aaaagcgtattggtgaaaaagccatgaccaaatacaacagaatcaaaatcaactctggg
gcaaataacaatggagttgccaatcttcaaaacaaatgctattaccacaatccttgctgc
agtcacactctgtttcgcttccagtcaaaacatcactgaagaattttatcaattcaacat
gcagtgagtagcaaggctatcttagtgctctaagaactgggt
```

>SLP-1262-04:

```
ttcaatctgtctggaactatatcacaacccaccgatactagctccaacaacaccaagt
gctgagccaatcctgcaatctacaacagtcgaagacaaaaacacaacaacccaataa
caaccagcaagctcaccacaaaacaacgcaaaaacaaaccacaaacaaaccaatgat
gattttcactttgaagtggttcaactttgtaccctgcagcatatgcagcaacaatccaact
tgctgggccatctgcaaaagaataccaggcaaaaaaacctggaaggaaaaccaccaccaag
cccacgaaaaaaccaaccatcaagacaacaaaaaagatctcaaacctcaaactacaaaa
```



```
ccaaaggaagcacctaccaccaagcccacagaaaagccaacatcaacatcaccaaacca  
aacatcagaactacactgctcaccaacagtagcacaggaatctagaacacacaagtc  
gaggaaaccctccattcaacctcctccgaaggcaatacaagcccttcacaaatctataca  
acatccgagtagctatcacaaacctccatctccatccaacataacagaccagtagtcatta  
aaaagcgtattattgcaaaaaacatgaccaaatacaaacagaatcaaaaataagctctggg  
gcaaataacaatggatttgccaatccttaaaacaaacgcaatcactgcaatccttgctgc  
agtctcactctgtttcgcttccagtcaaacatcactgaagaatttatcaatcaacatgc  
gagcagttagcaaaggctatcttagtgcttaagaactggttg
```

>SLP-1513-05:

```
ttcaatctgtctggaactatatcacaaccaccgccatactagctccaacaacaccaagt  
gtcgagccaatcctgcaatctacaacagtagcaagacccaaaaacacaacaacccaaata  
caaccagcaagctcaccacaaaacaacgccccaaaacaaaccacaaacaaacccaatgat  
gattttcactttgaagtgttcaactttgtaccctgcagcatatgcagcaacaatccaact  
tgctgggccatctgcaaaagaataccaagcaaaaaacctggaaagaaaaccaccaccaag  
cccacgaaaaaacaaccataaagacaacaaaaaagatctcaaacctcaaactacaaaa  
ccaaaggaagcacctaccaccaagcccacagaaatgccaacatcaacatcaccaaacca  
aacatcagaactacactgctcaccaacagtagcacaggaatctagaacacacaagtc  
gaggaaaccctccattcaacctcctccgaaggcaatacaagcccttcacaaatctataca  
acatccgagtagctatcacaaacctccatctccatccaacataacagaccagtagtcatta  
aaaagcgtattattgcaaaaaacatgaccaaatacaaacagaatcaaaaataagctctggg  
gcaaataacaatggatttgccaatcctcaaaacaaatgcaattactgcaatccttgctgc  
agtcttactctgtttcgcttccagtcaaacatcactgaagaatttatcaatcaacatgc  
agtgcagttagcaaaggctatcttagtgctttaagaactgg
```

Alineamientos múltiples. Se seleccionaron 36 secuencias de VSR del grupo A depositadas en el GenBank. El cuadro número 4 muestra el país y año en que se obtuvieron las diferentes cepas de VSR utilizadas, así como el número de acceso al GenBank. Al comparar con secuencias depositadas en el GenBank se observó que las secuencias de cepas de VSR detectadas en San Luis Potosí fueron únicas, pero mostraron gran similitud a secuencias de virus detectados en otras áreas geográficas durante un lapso de tiempo cercano a la obtención de nuestras muestras. En la Figura 2 del árbol filogenético generado, se observa la relación entre las cepas de VSR detectadas en San Luis Potosí y cepas estudiadas en otras regiones geográficas. La distribución de las secuencias incluidas permite identificar la formación de tres grupos. De acuerdo a descripciones previas de las diferentes cladas de VSR del grupo A, los grupos identificados pertenecen a cepas de las cladas GA1, GA2 y GA5 (24,27). Las muestras SLP-1262-04 y SLP-1513-05 fueron obtenidas durante la temporada invernal 2004-2005 y

pertenecen a la clada GA5. Estas secuencias de VSR son muy similares entre ellas; sin embargo, la secuencia de la muestra SLP-1513-05 presenta mayor homología a la cepa ARG145-04 (AY910823) aislada en Argentina en el 2004. La muestra SLP-1202-04 pertenece a la clada GA2 y su secuencia muestra similitud a la cepa ARG4385-03 (AY910788) aislada en Argentina en el 2003.

DISCUSIÓN

En este estudio hemos determinado la frecuencia de infecciones por VSR de los grupos A y B en San Luis Potosí durante los periodos invernales comprendidos entre los años 2003 a 2005. Los resultados obtenidos contribuyen tanto a la definición de los tipos de VSR circulantes en México, como al estudio de la patogenicidad relativa de las cepas del grupo A y B de VSR y a la caracterización de la epidemiología por métodos moleculares de las infecciones por VSR en nuestro país.

En México, la información sobre los tipos de VSR circulantes es mínima, el único antecedente al presente trabajo es el reporte de la tipificación mediante anticuerpos monoclonales de 21 cepas de VSR aisladas en la ciudad de México (23). Sin embargo, no existen publicaciones sobre la tipificación molecular de las cepas de VSR asociadas a infecciones respiratorias en México. Los resultados del presente trabajo muestran la circulación simultánea de cepas de VSR de los grupos A y B en nuestra localidad, con un patrón epidemiológico similar en los dos años estudiados. Los tres casos de coinfección que fueron detectados, ocurrieron durante el mes con mayor número de casos causados por cepas de VSR tanto del grupo A como del grupo B. Estos resultados indican que en caso de desarrollarse vacunas para VSR dirigidas contra la proteína G, éstas deben inducir una respuesta inmune en contra de ambas isoformas de la proteína. A este respecto, es conveniente mencionar que son muy comunes las epidemias causadas en forma simultánea por VSR de los grupos A y B. Sin embargo, la mayoría de los reportes han mostrado un predominio de cepas de VSR del grupo A en otros países (18). En contraste, se ha observado que durante algunas temporadas invernales, las infecciones por VSR del grupo B pueden predominar, alternando con infecciones por VSR del grupo A (19,28,29).

Existe contradicción en cuanto a la patogenicidad entre cepas de VSR del grupo A y B. Fletcher y colaboradores sugieren que algunos subtipos del grupo A son más patogénicos que otros (30). Sin embargo, este reporte presenta algunas limitaciones debido a que se incluyó solamente la mitad de los casos de infección por VSR detectados durante el periodo de estudio y la metodología estadística utilizada no fue clara. Por otra parte, Homsleth y colaboradores sugirieron que las infecciones causadas por VSR del grupo B tienen una mayor severidad que las ocasionadas por el grupo A (31). En contraste, Papadopoulos y colaboradores encontraron que los sujetos con infecciones por VSR del grupo A tuvieron un índice de severidad mayor que aquellos con infección por VSR del grupo B (20). Sin embargo, en este último estudio no fue posible tipificar el 41% de los aislados de VSR, y además no se realizó un análisis multivariado, que incluyera otras variables de importancia. A diferencia de los estudios anteriores, Smyth y colaboradores encontraron que la severidad de las infecciones causadas por VSR se relaciona más bien a la respuesta inflamatoria generada por el paciente y que ésta no guarda relación con el genotipo de VSR (32). Por otro lado, Scott y colaboradores no demostraron diferencias entre la proporción de los diferentes genotipos responsables de infección en pacientes hospitalizados comparados con aquellos que solo requirieron atención ambulatoria (33).

La mayoría de los estudios mencionados difieren con el presente trabajo en varios aspectos: en algunos se tipificó el grupo del VSR en sólo una fracción de los casos incluidos, pero no se explicó el motivo de la selección ni la metodología utilizada. En otros estudios a pesar de que sí se tipificaron los aislados del VSR en todos los casos, no se analizó el posible papel de factores predisponentes o las características de los sujetos que no se incluyeron en el estudio. Dado que se ha encontrado que los principales factores que determinan la gravedad de las infecciones por VSR son las enfermedades subyacentes

del paciente, en nuestro estudio solo incluimos a sujetos previamente sanos. De esta forma, la población de nuestro estudio es más homogénea y permite evaluar más adecuadamente la contribución de los diferentes grupos de VSR a la severidad del cuadro clínico. Sin embargo, no encontramos ninguna diferencia significativa en las características clínicas de los pacientes con infecciones causadas por VSR del grupo A y B. Asimismo, la duración de la hospitalización como marcador de severidad de la infección fue similar entre las infecciones causadas por los dos grupos de VSR. Además, nuestros resultados indican que las infecciones por VSR del grupo A y B producen cuadros clínicos indistinguibles y que estos dos grupos no contribuyen de manera significativa a las diferencias que pueden observarse en la evolución de los pacientes con infecciones de vías aéreas inferiores.

Las secuencias de las cepas de VSR detectadas en San Luis Potosí pertenecen a las cladas GA2 y GA5 y muestran mayor homología a cepas de VSR aisladas en Argentina durante temporadas invernales cercanas. En el caso de las cepas pertenecientes a la clada GA2, ésta se detectó en el año 2003 en Argentina, mientras que la detección de éste virus en San Luis Potosí ocurrió en enero del 2004. En cuanto a las cepas de nuestra ciudad pertenecientes a la clada GA5, ambas fueron detectadas durante el invierno de 2004-2005, mientras que la cepa con mayor homología estudiada se aisló durante el año 2004 en Argentina. En ambos casos, las cepas con mayor homología fueron aisladas en Sudamérica y, tomando en cuenta la epidemiología de esta infección en el cono Sur, seguramente unos meses antes de su detección en San Luis Potosí (36). Estas observaciones pudieran indicar el sentido de circulación de las diversas cepas de VSR en Latinoamérica.

Estudios de epidemiología molecular han mostrado que cepas de diferentes cladas pueden circular simultáneamente en una comunidad (37). Sin embargo, en una región específica casi siempre predominan las cepas de una clada durante una o varias temporadas. Por ejemplo, en varios países de Europa las epidemias de VSR fueron causadas predominantemente por cepas de VSR agrupadas en el linaje GA1 durante los años 1988 a 1990 (25). Posteriormente las cepas de VSR GA1 han sido detectadas menos frecuentemente en esos países. Al igual que pueden circular simultáneamente cepas de VSR genéticamente diversas en una localidad, también se ha descrito la detección de cepas de VSR con secuencias idénticas (por lo menos de los segmentos estudiados) en diferentes lugares geográficos (36). Por lo tanto, se sugiere que ciertas cepas de VSR puede presentar una diseminación geográfica amplia y la variabilidad observada es predominantemente temporal más que geográfica.

En conclusión, hemos determinado que en la ciudad de San Luis Potosí, durante las temporadas invernales 2003-2004 y 2004-2005, circularon cepas de VSR del grupo A y del grupo B en forma simultánea. Sin embargo, las cepas del grupo A predominaron sobre las del grupo B en ambos años. Nuestros datos indican que las características clínicas y la gravedad de las infecciones por VSR no difieren entre aquellas causadas por cepas de los grupos A y B. Finalmente, el análisis filogenético muestra que durante los años 2003-2005 en San Luis Potosí circularon cepas de VSR pertenecientes a las cladas GA2 y GA5.

REFERENCIAS

- 1- Mulholland K. Global burden of acute respiratory infections in children: implications for interventions. *Pediatr Pulmonol* 2003; 36: 469-474.
- 2- Statistics of hospital discharges in the public sector of the National Health System, 2000. *Salud Publ Mex* 2002; 44: 158-187.
- 3- Glezen WP, Greenberg SB, Atmar RL, Piedra PA, Couch RB. Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions. *JAMA* 2000; 283: 499-505.
- 4- Hemming VG. Viral respiratory diseases in children: classification, etiology, epidemiology, and risk factors. *J Pediatr* 1994; 124: S13-S16.
- 5- Meissner HC. Economic impact of viral respiratory disease in children. *J Pediatr* 1994; 124: S17-S21.
- 6- Henrickson KJ, Kuhn SM, Savatsky LL. Epidemiology and cost of infection with human parainfluenza virus types 1 and 2 in young children. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 770-779.
- 7- Paisley JW, Lauer BA, McIntosh K, Glode MP, Schachter J, Rumack C. Pathogens associated with acute lower respiratory tract infection in young children. *Pediatr Infect Dis* 1984; 3: 14-19
- 8- Falsey AR, Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection in elderly adults. *Drugs Aging* 2005; 22: 577-587.
- 9- Noyola DE, Rodríguez-Moreno G, Sánchez-Alvarado J, Martínez-Wagner R, Ochoa-Zavala JR. Viral etiology of lower respiratory tract infections in hospitalized children in Mexico. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 118-123.
- 10- Dudas RA, Karron RA. Respiratory syncytial virus vaccines. *Clin Microbiol Rev* 1998;11: 430-439.

- 11- Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child* 1986; 140: 543-546.
- 12- Murguía de Sierra T, Bustos E, Casasola-Flores J, Gómez-Barreto D. Papel del virus sincicial respiratorio en infecciones respiratorias bajas en un hospital pediátrico de México. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1995; 52: 17-22.
- 13- Muraira-Gutiérrez A, Villarreal-Castellanos E, Quiroga-Garza A, Ábrego-Moya V, Durán-Rodríguez AG, Cárdenas del Castillo BG. Frecuencia de niños hospitalizados por el virus sincicial respiratorio en tres periodos invernales. *Rev Mex Pediatr* 2003; 70: 167-170.
- 14- Noyola DE, Zuviri-Gonzalez A, Castro-Garcia JA, Ochoa-Zavala JR. Impact of respiratory syncytial virus on hospital admissions in children younger than 3 years of age. *J Infect* 2007; 54: 180-184.
- 15- Welliver RC. Review of epidemiology and clinical risk factors for severe respiratory syncytial virus (RSV) infection. *J Pediatr* 2003; 143: S112-S117.
- 16- Glezen WP, Paredes A, Allison JE, Taber LH, Frank AL. Risk of respiratory syncytial virus infection for infants from low-income families in relationship to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level. *J Pediatr* 1981; 98: 708-715.
- 17- Legg JP, Hussain IR, Warner JA, Johnston SL, Warner JO. Type 1 and type 2 cytokine imbalance in acute respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 633-639.
- 18- Sullender WM. Respiratory syncytial virus genetic and antigenic diversity. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 1-15
- 19- Sato M, Saito R, Sakai T, y col. Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus infections among children with acute respiratory symptoms in a community over three seasons. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 36-40.

- 20- Papadopoulos NG, Gourgiotis D, Javadyan A, y col. Does respiratory syncytial virus subtype influences the severity of acute bronchiolitis in hospitalized infants? *Respir Med* 2004; 98: 879-882.
- 21- Martinello RA, Chen MD, Weibel C, Kahn JS. Correlation between respiratory syncytial virus genotype and severity of illness. *J Infect Dis* 2002; 186: 839-842.
- 22- Brandenburg AH, van Beek R, Moll HA, Osterhaus AD, Claas EC. G protein variation in respiratory syncytial virus group A does not correlate with clinical severity. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3849-3852.
- 23- Tirado R, Sarmiento RE, Bustos J, Thompson O, Gomez B. Occurrence of respiratory syncytial virus subtypes in Mexican infants with acute lower respiratory tract disease. *Arch Med Res* 1995; 26: 121-126.
- 24- Manjarrez ME, Rosete DP, Rincon M, Villalba J, Cravioto A, Cabrera R. Comparative viral frequency in Mexican children under 5 years of age with and without upper respiratory symptoms. *J Med Microbiol* 2003; 52: 579-583.
- 25- Zlateva KT, Lemey P, Vandamme AM, Van Ranst M. Molecular evolution and circulation patterns of human respiratory syncytial virus subgroup A: positively selected sites in the attachment G glycoprotein. *J Virol* 2004; 78: 4675-4683.
- 26- Zlateva KT, Lemey P, Moes E, Vandamme AM, Van Ranst M. Genetic variability and molecular evolution of the human respiratory syncytial virus subgroup B attachment G protein. *J Virol* 2005; 79: 9157-9167.
- 27- Nei M. Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genetics. *Annu Rev Genet* 1996; 30: 371-403.
- 28- Peret TC, Hall CB, Schnabel KC, Golub JA, Anderson LJ. Circulation patterns of genetically distinct group A and B strains of human respiratory syncytial virus in a community. *J Gen Virol* 1998; 79: 2221-2229.

- 29- Arbiza J, Delfraro A, Frabasile S. Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus in Uruguay: 1985-2001--a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100: 221-230.
- 30- Fletcher JN, Smyth RL, Thomas HM, Ashby D, Hart CA. Respiratory syncytial virus genotypes and disease severity among children in hospital. *Arch Dis Child* 1997; 77: 508-511.
- 31- Hornsleth A, Klug B, Nir M, y col. Severity of respiratory syncytial virus disease related to type and genotype of virus and to cytokine values in nasopharyngeal secretions. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17: 1114-1121.
- 32- Smyth RL, Mobbs KJ, O'Hea U, Ashby D, Hart CA. Respiratory syncytial virus bronchiolitis: disease severity, interleukin-8, and virus genotype. *Pediatr Pulmonol* 2002; 33: 339-346.
- 33- Scott PD, Ochola R, Ngama M, y col. Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus in Kilifi district, Kenya. *J Med Virol* 2004; 74: 344-354.
- 34- Venter M, Collinson M, Schoub BD. Molecular epidemiological analysis of community circulating respiratory syncytial virus in rural South Africa: comparison of viruses and genotypes responsible for different disease manifestations. *J Med Virol* 2002; 68: 452-461.
- 35- DeVincenzo JP. Natural infection of infants with respiratory syncytial virus subgroups A and B: a study of frequency, disease severity, and viral load. *Pediatr Res* 2004; 56: 914-917.
- 36- Viegas M, Barrero PR, Maffey AF, Mistchenko AS. Respiratory viruses seasonality in children under five years of age in Buenos Aires, Argentina: a five-year analysis. *J Infect* 2004; 49: 222-228.

37- Peret TC, Hall CB, Hammond GW, et al. Circulation patterns of group A and B human respiratory syncytial virus genotypes in 5 communities in North America. *J Infect Dis* 2000; 181: 1891-1896.

PIES DE FIGURA

Figura 1. Número de infecciones causadas por VSR del grupo A y B de acuerdo al mes de ingreso al hospital. Se analizaron muestras de 108 pacientes de los periodos 2003-2004 (66 pacientes) y 2004-2005 (42 pacientes).

Figura 2. Filograma de secuencias nucleotídicas de VSR. Se muestra el agrupamiento de la muestra SLP-1002-04 en la clada GA2 y de las muestras SLP-1262-04 y SLP-1513-05 en la clada GA5.

Cuadro 1. Características demográficas de niños incluidos en el estudio

Sexo masculino	65 / 113 (57.5 %)
Padre fuma	36 / 98 (36.7 %)
Madre fuma	4 / 113 (3.5 %)
Número de hermanos	
0	35 / 113 (31 %)
1	27 / 113 (23.9 %)
>1	51 / 113 (45.1 %)
Historia de defunción de algún hermano	6 / 113 (5.3 %)
Asistencia a centro de desarrollo y cuidado infantil	2 / 113 (1.8 %)
Historia de neumonía previa	10 / 113 (8.8 %)
Exposición pasiva al humo de tabaco	39 / 113 (34.5 %)

Cuadro 2. Características de los pacientes en que se detectó VSR de los grupos A o B

	VSR grupo A (n = 70)	VSR grupo B (n = 35)	<i>p</i>
Edad en años	0.52*	0.43*	0.91
Número de hermanos	1	1	0.55
Año de estudio			
2003-2004	44 (62.9 %)	20 (57.1 %)	0.72
2004-2005	26 (37.1 %)	15 (42.9 %)	
Sexo masculino	43 (61.4 %)	18 (51.4 %)	0.44
Historia de defunción de hermano	3 (4.3 %)	3 (8.6 %)	0.4
Historia de neumonía previa	5 (7.1 %)	5 (14.3 %)	0.29
Exposición pasiva a humo de tabaco	23 (32.9%)	13 (37.1%)	0.82
Fiebre	51 (72.9 %)	24 (68.6 %)	0.82
Tos	70 (100 %)	34 (97.1 %)	0.33
Rinorrea	51 (72.9 %)	27 (77.1 %)	0.81
Historia de dificultad respiratoria	63 (90 %)	31 (88.6 %)	1
Vómito	21 (30 %)	16 (45.7 %)	0.17
Diarrea	10 (14.3 %)	5 (14.3 %)	1
Disociación tóraco-abdominal	46 (65.7 %)	17 (48.6 %)	0.14
Tiros intercostales	47 (67.1 %)	26 (74.3 %)	0.6
Estridor	3 (4.3%)	1 (2.9 %)	1
Estertores	57 (82.6 %)	30 (85.7 %)	0.9
Sibilancias	48 (68.6 %)	21 (60 %)	0.51
Frecuencia respiratoria	56	52	0.58
Frecuencia cardíaca	148	147.5	0.46
Temperatura	37.6	37.1	0.17
Requirió oxígeno	67 (95.7 %)	32 (91.4 %)	0.4
Requirió ventilación mecánica	1 (1.4 %)	0	1
Requirió ingreso a sala de cuidados intensivos	2 (2.9 %)	0	0.5
Días de estancia hospitalaria	4	4	0.71

* Los números son medianas o número de casos (%).

Cuadro 3. Características de pacientes de acuerdo a la duración de la hospitalización

	Hospitalización corta (0-3 días) (n = 41)	Hospitalización prolongada (>3 días) (n = 64)	<i>p</i>
Edad en años	0.59*	0.41	0.24
Número de hermanos	2	1	0.53
Año de estudio			
2003-2004	23 (56.1 %)	41 (64.1 %)	0.54
2004-2005	18 (43.9 %)	23 (35.9 %)	
Sexo masculino	24 (58.5 %)	37 (57.8 %)	1
Historia de defunción de hermano	0	6 (9.4 %)	0.08
Historia de neumonía previa	4 (9.8 %)	6 (9.4 %)	1
Exposición pasiva a humo de tabaco	15 (36.6 %)	21 (32.8 %)	0.85
Fiebre	31 (75.6 %)	44 (68.8 %)	0.59
Tos	41 (100 %)	63 (98.4 %)	1
Rinorrea	27 (65.9 %)	51 (79.7 %)	0.18
Historia de dificultad respiratoria	35 (85.4 %)	59 (92.2 %)	0.33
Vómito	11 (26.8 %)	26 (40.6 %)	0.22
Diarrea	3 (7.3 %)	12 (18.8 %)	0.18
Disociación tóraco-abdominal	17 (41.5 %)	46 (71.9 %)	0.004
Tiros intercostales	25 (61 %)	48 (75 %)	0.19
Estridor	2 (4.9 %)	2 (3.2 %)	0.65
Estertores	35 (85.4 %)	52 (82.5 %)	0.91
Sibilancias	24 (58.5 %)	45 (70.3 %)	0.3
Frecuencia respiratoria	54	56	0.56
Frecuencia cardíaca	148	147.5	0.82
Temperatura	37.7	37.5	0.6
Requirió oxígeno	37 (90.2 %)	62 (96.9 %)	0.21
Requirió ventilación mecánica	0	1 (1.6 %)	1
Requirió ingreso a sala de cuidados intensivos	0	2 (3.1 %)	0.52
Grupo de VSR			
grupo A	30 (73.2 %)	40 (62.5 %)	0.36
grupo B	11 (26.8 %)	24 (37.5 %)	

* Los números son medianas o número de casos (%).

Cuadro 4. Secuencias del gen de la proteína G de VSR utilizadas en el estudio filogenético

Número de acceso al GenBank	País	Año de aislamiento
MI1486	Australia	1961
AY910840	Argentina	1997
AY910788	Argentina	2000
AY910805	Argentina	2002
AY910813	Argentina	2003
AY910822	Argentina	2004
AY910823	Argentina	2004
AY343657	Bélgica	1992
AY343619	Bélgica	1995
AY343618	Bélgica	1995
AY343581	Bélgica	2000
AY343576	Bélgica	2001
AY343578	Bélgica	2001
AF193309	Corea del Sur	1992
AF193319	Corea del Sur	1992
Z33416	España	1990
Z33418	España	1992
Z33417	España	1992
AF065408	Estados Unidos	1987
AF065407	Estados Unidos	1982
DQ768752	Estados Unidos	ND *
DQ768753	Estados Unidos	ND
AY524600	Kenya	2002
AY524602	Kenya	2001
DQ171839	Nueva Zelanda	1992
DQ171767	Nueva Zelanda	1993
DQ171838	Nueva Zelanda	1994
DQ171829	Nueva Zelanda	1997
DQ171840	Nueva Zelanda	2003
DQ171819	Nueva Zelanda	2003
DQ985744	Turquía	2006
DQ985747	Turquía	2006
DQ985748	Turquía	2006
Z33427	Uruguay	1990
Z33429	Uruguay	1991
Z33432	Uruguay	1992

* Aquellas accesiones para las cuales no se logró extraer la fecha de aislamiento han sido marcadas como ND.

Figura 1

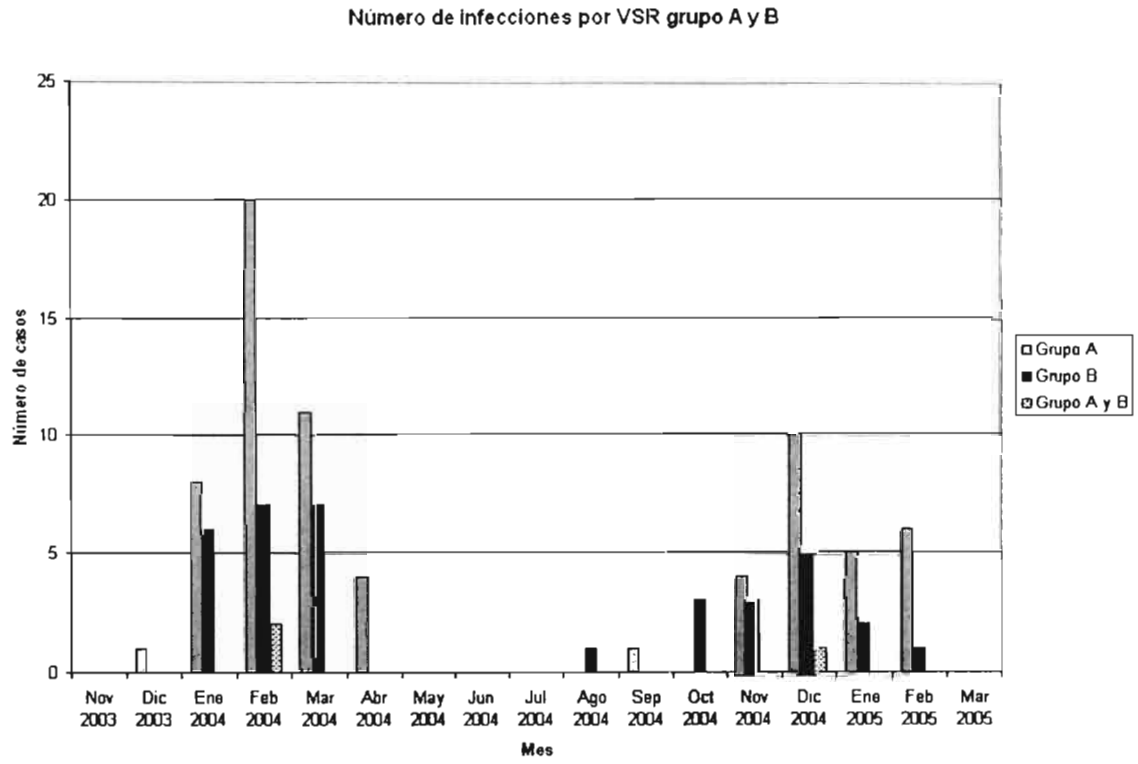
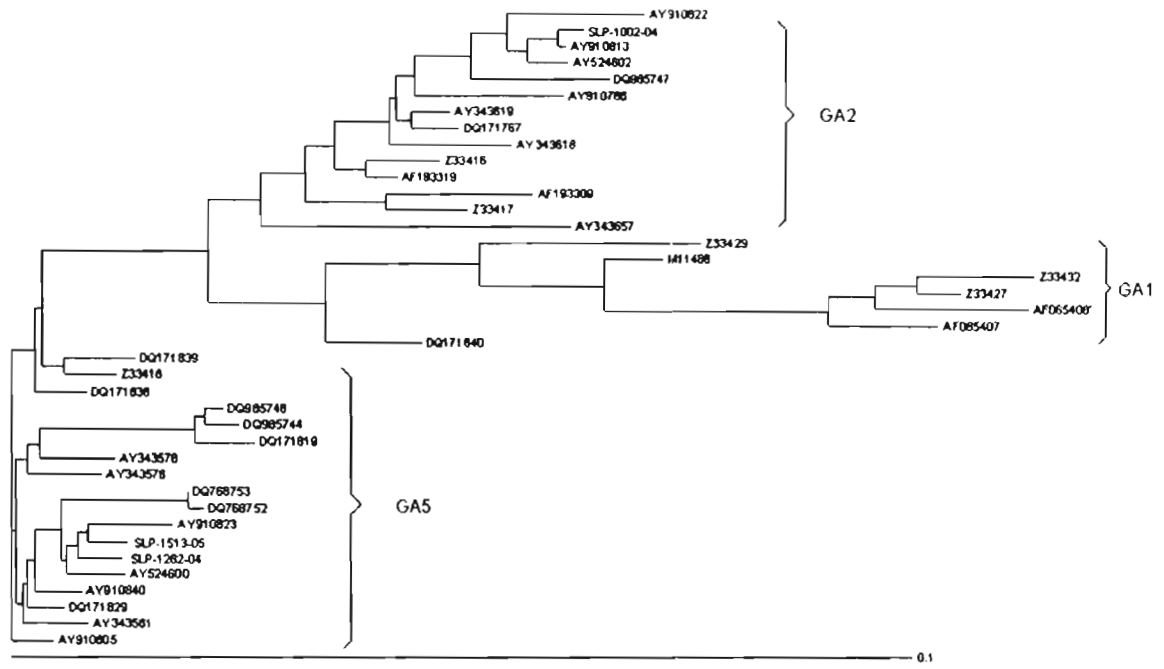


Figura 2



ANEXOS

Artículos publicados en revistas arbitradas durante el último año:

1- Noyola DE, Zuviri-Gonzalez A, Castro-Garcia JA, Ochoa-Zavala JR. Impact of respiratory syncytial virus on hospital admissions in children younger than 3 years of age. *J Infect* 2007; 54: 180-184.

2- Perez-Gonzalez LF, Ruiz-Gonzalez JM, Noyola DE. Nosocomial bacteremia in children: a 15-year experience at a general hospital in Mexico. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28: 418-422.



ELSEVIER



www.elsevierhealth.com/journals/jinf

Impact of respiratory syncytial virus on hospital admissions in children younger than 3 years of age[☆]

Daniel E. Noyola^{a,b,*}, Antonio Zuviri-González^b,
José A. Castro-García^b, J. Raúl Ochoa-Zavala^a

^a Department of Pediatrics, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto", San Luis Potosí, Mexico

^b Microbiology Department, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, Mexico

Accepted 9 February 2006

Available online 31 March 2006

KEYWORDS

Respiratory tract
infection;
Bronchiolitis;
Pneumonia;
Respiratory syncytial
virus;
Palivizumab;
Mexico

Summary *Background:* Respiratory syncytial virus (RSV) is the main pathogen associated to acute respiratory infections (ARI) in children worldwide.

Objective: To determine the contribution of RSV to hospital admissions in children <3 years of age from May 2003 through April 2005 in San Luis Potosí, Mexico.

Methods: Cross-sectional survey of children <3 years of age admitted to a public general hospital and detection of RSV in respiratory secretions of children with ARI.

Results: There were 2036 children <3 years of age admitted to the hospital during the study period. The diagnosis at the time of admission was an ARI in 734 (36.1%) patients. RSV was detected in 153 (24.8%) of the 616 subjects who were tested. Children <1 year comprised 66% of admissions among children <3 years. RSV was detected in 26.9% of children with ARI <1 year; 21.5% of those 12–24 months of age and 15.25% of those 24–36 months old.

Conclusions: RSV was associated to 24.8% of ARI-related admissions in children <3 years of age. It is necessary to determine risk factors for RSV-related hospitalizations to evaluate the feasibility of establishing a preventive program for RSV infections in Mexico.

© 2006 The British Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

[☆] Presented, in part, at the XI Congreso Latinoamericano de Infectología Pediátrica, Veracruz, México, June 8–11, 2005. Support for this work was provided by: Fondo Mixto CONACYT-Gobierno del Estado de San Luis Potosí (grant FMSP-2002-5315) and Fondo de Apoyo a la Investigación, Universidad Autónoma de San Luis Potosí (grants C03-FRC-07-5.22 and C04-FAI-10-7.50).

* Corresponding author. Microbiology Department, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Avenida Venustiano Carranza 2405, Col. los Filtros, San Luis Potosí, S.L.P., Mexico 78210. Tel.: +52 444 826 23 45x534; fax: +52 444 826 23 45x534.

E-mail address: dnoyola@uaslp.mx (D.E. Noyola).

Introduction

Acute respiratory infections (ARI) are one of the leading health problems in children worldwide.¹ Older adults are also at increased risk for ARI-related hospitalizations; the number of hospitalizations related to ARI increased 50% from 1985 to 1995 in subjects older than 65 years of age.² Patients with underlying chronic conditions are also at increased risk of hospitalization, highlighting the importance for the development of effective vaccines against viral respiratory pathogens, including respiratory syncytial virus (RSV) and other pathogens.² In Mexico, respiratory infections are responsible for a large number of hospitalizations and deaths in children younger than 5 years of age.³ In this age group most of ARI are caused by viral pathogens.⁴⁻⁷ However, the contribution and impact of different respiratory pathogens to ARI has been poorly characterized in our country. The importance of establishing the etiology of respiratory infections is related to the ability to introduce preventive programs in the management of these patients. The correct identification of the viral etiology in subjects with ARI can also lead to a reduction in the prescription of antibiotics, as well as a reduction in nosocomial transmission of these infections.⁸⁻¹⁰ Some studies have shown a reduction in the duration of hospitalizations and in the number of laboratory tests ordered when a specific viral etiology was determined.^{10,11} The objective of this study was to determine the proportion of hospital admissions that are caused by RSV in a general hospital in the city of San Luis Potosí, Mexico. This information may be useful to determine the need and the possible impact of preventive programs for infections caused by this virus.

Patients and methods

Study site

This study was conducted in the pediatric wards of the Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto", a public general hospital located in the city of San Luis Potosí, Mexico.

Patients

We recorded the number of subjects admitted to the pediatric wards from May 1st, 2003 through April 30, 2005, as well as their admission diagnosis. Infants admitted to the newborn nursery and neonatal intensive care unit were not included in

this study. All other subjects younger than 3 years of age, admitted because of a respiratory infection were eligible for this study. A nasopharyngeal wash was performed to obtain respiratory secretions as soon as possible after admission to the hospital. Parents were interviewed and informed consent was obtained prior to obtaining respiratory samples.

Samples

Respiratory samples were collected using a sterile feeding catheter. Samples were kept on wet-ice and transported to the virology laboratory at the Universidad Autónoma de San Luis Potosí for viral antigen detection. Samples obtained during weekends were placed on viral transport media, kept refrigerated and processed on Monday mornings.

Laboratory methods

Viral detection was performed by direct fluorescent antibody assay, using commercially available monoclonal antibodies (Respiratory DFA viral screening & identification kit, Light Diagnostics, Chemicon International; Temecula, CA) using previously described methods.¹² Human metapneumovirus infections were studied in a subset of patients and results have been reported elsewhere.¹³

Statistical analysis

The proportion of patients admitted because of an ARI and RSV-related ARI was compared according to age using the chi-square test. Duration of hospital admissions was compared using the Mann-Whitney *U* test. A *P*-value <0.05 was considered as significant. Statistical analyses were performed using EpiInfo version 6 and SPSS 8.0 for windows.

Results

Respiratory infections

During the 24-month study period there were 2036 children <3 years of age admitted to the hospital. Seven hundred and thirty-four (36%) were admitted because of an ARI. Respiratory samples were obtained from 616 (83.9%) of subjects admitted with a respiratory infection. RSV was detected in 153 (24.8%) of studied subjects. The number of hospital admissions according to age, and diagnosis, and RSV status are shown in Table 1. Of the

Table 1 Respiratory syncytial virus (RSV) related hospitalizations according to patients' age

Age group (months)	Total admissions	Respiratory infections	Subjects sampled for RSV testing	RSV positive cases
0 to <1	486	70 (14.4%)	56	20
1 to <2	169	84 (49.7%)	71	20
2 to <3	113	54 (47.8%)	48	9
3 to <4	101	58 (57.4%)	53	11
4 to <5	84	39 (46.4%)	35	13
5 to <6	69	37 (53.6%)	34	8
6 to <12	322	153 (47.5%)	153	40
12 to <24	410	157 (38.3%)	107	23
24 to <36	282	82 (29.1%)	59	9
Total	2036	734 (36.1%)	616	153

subjects (66%) were younger than 1 year of age. The proportion of patients admitted because of a respiratory infection was greater for children <2 years of age (37.2%) compared to those 24–36 months of age (29.1%) ($P=0.01$).

The proportion of children infected by RSV among those tested was greatest among those 0–12 months of age (26.9%) compared to those 12–24 (21.5%) and 24–36 months of age (15.25%), although the differences were not statistically significant ($P=0.1$).

Epidemiology of RSV infections

We observed an epidemic pattern for RSV infections in our city during the two study years. The presence of RSV in the community was reflected in an increase in the number of pediatric admissions to the hospital (Fig. 1). During the 2003–2004

winter season RSV was detected from December through April, and during the 2004–2005 season RSV was detected from August through February.

The number of RSV positive subjects varied during the different months of the epidemic, and the greatest proportion of positive cases among respiratory infections was noted in February 2004 (54.6%). During the 2004–2005 season the greatest proportion of positive cases was noted in November and December and was 36.4%.

Demographic features and outcome of RSV hospitalizations

Hundred and twenty (78.4%) infants with RSV infections were previously healthy and 33 (21.6%) had one or more underlying disorders [history of prematurity (20), congenital heart disease (8), congenital malformations (4), gastroesophageal

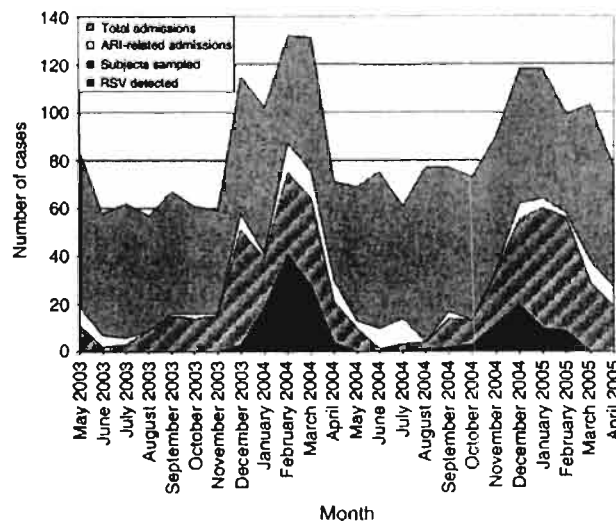


Figure 1 Monthly number of admissions, respiratory tract infection-related admissions and RSV-related admissions in children younger than 3 years of age.

reflux (4), neurological disorders (3), Down syndrome (3), bronchopulmonary dysplasia (2), and asthma (1)]. Other demographic features of children with RSV infections are presented on Table 2. The median hospital stay of infants with RSV-related hospitalizations was 4 days (range <24 h (infants admitted to a short stay observation unit in the emergency room) to 26 days). Children with underlying disorders had longer hospitalizations than previously healthy infants (median hospital stay 5 vs. 4 days, $P=0.017$; Fig. 2). Four (2.6%) infants required admission to the intensive care unit, including two who required mechanical ventilation. There were no deaths among infants admitted with RSV infection during the study period.

Discussion

Children younger than 1 year of age comprise the population most affected by ARI and RSV infections. In our study, RSV was detected in 26.9% of studied subjects in this age group, and in 24.8% of all studied children. This finding contrasts with the 40.4% detection rate observed in a previous study in our city during the 2002–2003 season.¹² Muraira-Gutiérrez et al.¹⁴ in a study performed in hospitalized patients in Monterrey, Nuevo León also observed great variations in the detection rate for RSV infections during subsequent winter seasons (16% positive rate for the 2000–2001 season compared to 47.2% for the 2001–2002 season). In that study, a threefold increase in ARI-related admissions compared to previous years was observed during the 2001–2002 season, when RSV was detected more frequently. Studies performed in Mexico City among patients with lower respiratory tract infections have reported detection rates for RSV of 25.6 and 36%.^{15,16}

Table 2 Demographic features and exposures of infants with RSV-related hospitalizations

Feature	Frequency
Male gender	88/153 (57.5%)
Father smokes	50/130 (38.5%)
Mother smokes	4/148 (2.7%)
Number of siblings	
0	46/152 (30.3%)
1	36/152 (23.7%)
>1	70/152 (46%)
Rugs at home	7/149 (4.7%)
Animals at home	62/149 (41.6%)
Attends day-care center	5/153 (3.3%)

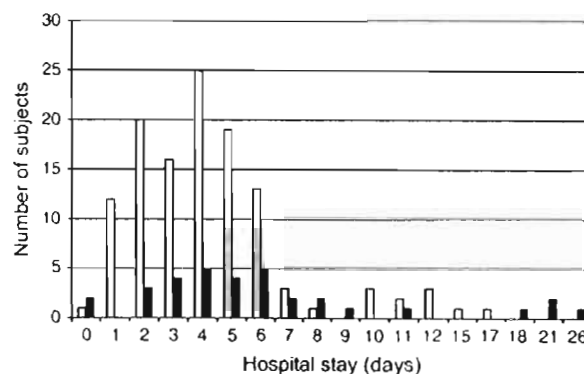


Figure 2 Duration of RSV-related hospitalizations for children with (black bars) and without (gray bars) underlying disorders.

Regarding the temporal presentation of RSV infections, we observed differences between the different study years. During the 2002–2003 season November was the month with the greatest number of RSV detections in our city,¹² while during 2003–2004 and 2004–2005 the months with the greatest number of detections were February and December, respectively. In the study, by Manjarrez et al.¹⁷ carried out in ciudad Nezahualcóyotl (Mexico) some degree of seasonal variation was observed for RSV infections; however, this was less marked than the seasonal variation reported in Monterrey in the 2001–2002 season and the one observed in our city.

Our study describes the burden of hospitalizations associated to RSV infections in young children, as well as the temporal fluctuations of RSV activity in our community.

Most infants hospitalized with RSV infection in our city did not have underlying disorders. However, children with underlying disorders had longer hospitalizations than previously healthy children. Studies to identify additional risk factors for severe RSV infections that lead to hospitalizations are needed to target preventive measures. These observations are relevant to determine the best time for the administration of monoclonal antibodies (such as Palivizumab) as prophylaxis for RSV infection in high-risk patients, and to estimate the effect such a therapy might have in our population.

In conclusion, RSV is an important pathogen in our community. It contributed to 24.8% of ARI-related admissions from 2003 to 2005. RSV was detected in 7.5% of all children <3 years of age admitted to the hospital and in 9% of those <1 year of age. Since RSV infections have a significant impact in pediatric hospitalizations, it is of importance to characterize risk factors associated to

hospital admissions in our population in order to establish preventive measures. Current epidemiological data on RSV activity in different regions of our country is needed.

References

1. http://www.who.int/fch/depts/cah/resp_infections/en/.
2. Glezen WP, Greenberg SB, Atmar RL, Piedra PA, Couch R. Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions. *JAMA* 2000;283:499-505.
3. Statistics of hospital discharges in the public sector of the National Health System, 2000. *Salud Pública Mex* 2002;44:158-87.
4. Hemming VG. Viral respiratory diseases in children: classification, etiology, epidemiology, and risk factors. *J Pediatr* 1994;124:513-6.
5. Meissner HC. Economic impact of viral respiratory disease in children. *J Pediatr* 1994;124:517-21.
6. Henrickson KJ, Kuhn SM, Savatsky LL. Epidemiology and cost of infection with human parainfluenza virus types 1 and 2 in young children. *Clin Infect Dis* 1994;18:770-9.
7. Paisley JW, Lauer BA, McIntosh K, Glode MP, Schachter J, Rumack C. Pathogens associated with acute lower respiratory tract infection in young children. *Pediatr Infect Dis* 1984;3:14-9.
8. Noyola DE, Demmler GJ. Effect of rapid diagnosis on management of influenza A infections. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:303-7.
9. Karanfil LV, Conlon M, Lykens K, Masters CF, Forman M, Griffith ME, et al. Reducing the rate of nosocomially transmitted respiratory syncytial virus. *Am J Infect Control* 1999;27:91-6.
10. Bonner AB, Monroe KW, Talley LI, Klasner AE, Kimberlin DW. Impact of the rapid diagnosis of influenza on physician decision-making and patient management in the pediatric emergency department: results of a randomized, prospective, controlled trial. *Pediatrics* 2003;112:363-7.
11. Woo PC, Chiu SS, Seto WH, Peiris M. Cost-effectiveness of rapid diagnosis of viral respiratory tract infections in pediatric patients. *J Clin Microbiol* 1997;35:1579-81.
12. Noyola DE, Rodríguez-Moreno G, Sánchez-Alvarado J, Martínez-Wagner R, Ochoa-Zavala JR. Viral etiology of lower respiratory tract infections in hospitalized children in Mexico. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:118-23.
13. Noyola DE, Alpuche-Solis AG, Herrera-Díaz A, Soria-Guerra RE, Sánchez-Alvarado J, López-Revilla R. Human metapneumovirus infections in México: epidemiological and clinical characteristics. *J Med Microbiol* 2005;54:969-74.
14. Muraira-Gutiérrez A, Villareal-Castellanos E, Quiroga-Garza A, Ábrego-Moya V, Durán-Rodríguez AG, Cárdenas del Castillo BG. Frecuencia de niños hospitalizados por el virus sincicial respiratorio en tres periodos invernales. *Rev Mex Pediatr* 2003;70:167-70.
15. Murguía de Sierra T, Bustos E, Casasola-Flores J, Gómez-Barreto D. Papel del virus sincicial respiratorio en infecciones respiratorias bajas en un hospital pediátrico de México. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1995;52:17-22.
16. Tirado R, Sarmiento RE, Bustos J, Thompson O, Gomez B. Occurrence of respiratory syncytial virus subtypes in Mexican infants with acute lower respiratory tract disease. *Arch Med Res* 1995;26:121-6.
17. Manjarrez ME, Roseta DP, Rincón M, Villalba J, Cravioto A, Cabrera R. Comparative viral frequency in Mexican children under 5 years of age with and without upper respiratory symptoms. *J Med Microbiol* 2003;52:579-83.

ORIGINAL ARTICLE

Nosocomial Bacteremia in Children: A 15-Year Experience at a General Hospital in Mexico

Luis Fernando Pérez-González, MD; Juana María Ruiz-González, MS; Daniel E. Noyola, MD

OBJECTIVE. To describe the incidence and etiology of nosocomial bloodstream infections in children at a general hospital.

DESIGN. Review of nosocomial bloodstream infections detected in children during 1991-2005. Data were prospectively gathered through active surveillance. Annual rates of infection were compared.

SETTING. A public general hospital in San Luis Potosí, Mexico.

PATIENTS. Children younger than 15 years of age admitted to pediatric wards and subjected to prospective surveillance for nosocomial infection.

INTERVENTIONS. Measures instituted to decrease the incidence of hospital-acquired infection during the 15-year study period included establishing active surveillance for hospital-acquired infection, reinforcing compliance with handwashing recommendations, decreasing the degree of crowding on wards, establishing guidelines for the management of intravenous catheters and solutions, preparing parenteral nutrition and intravenous solutions under a laminar air-flow hood, and increasing nursing personnel.

RESULTS. There were 868 nosocomial bloodstream infections detected in 29,273 subjects (overall rate, 2.94 episodes per 100 discharges). Infection rates were greatest among children admitted to the neonatal intensive care unit and lowest for those admitted to the school-age ward and the infectious diseases ward. There was a significant decrease in rates of nosocomial bacteremia in all of the wards. The organisms isolated most commonly were *Klebsiella pneumoniae*, *Candida* species, and coagulase-negative staphylococci. Mortality rates were higher for children with a gram-negative bacterial bloodstream infection (45.2%) and lower for children with a gram-positive bacterial infection (19.2%).

CONCLUSIONS. Rates of nosocomial bloodstream infection decreased over the past 15 years at our hospital but continue to cause significant mortality. Continuing efforts to decrease the frequency of and mortality due to bloodstream infection are warranted.

Infect Control Hosp Epidemiol 2007; 28:418-422

Hospital-acquired infections are a leading cause of morbidity in hospitals. Bloodstream infections are among the most common hospital-acquired infections in children.¹ In addition, bloodstream infections have high mortality rates, highlighting the importance of preventive measures.² An active infection control program can identify in a timely manner the occurrence of these infections and establish control measures. Data from Mexico regarding nosocomial infections in children are scarce. At the Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" (San Luis Potosí, Mexico), an infection control committee was established in 1991. We reviewed the incidence and microbiological features of hospital-acquired bloodstream infection recorded in pediatric patients at this institution during 1991-2005.

METHODS

Hospital Characteristics

The Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" is a general hospital that serves as a referral center for the state of San Luis Potosí and nearby areas. There are 13 specialty or subspecialty training programs at the hospital. In addition, medical students attend the hospital for training. The pediatric department provides specialty care in the following areas: cardiology, surgery, gastroenterology, hematology, infectious diseases, pulmonology, neonatology, nephrology, neurology, oncology, and intensive care. The pediatric wards include 71 beds and comprise the following areas: a neonatal intensive care unit (NICU), which includes intensive care, intermediate

From the Pediatrics Department (L.F.P.-G., D.E.N.) and the Unidad de Vigilancia Epidemiológica (L.F.P.-G., J.M.R.-G.), Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto," and the Departments of Pediatrics (L.F.P.-G.) and Microbiology (D.E.N.), Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

Received February 23, 2006; accepted April 24, 2006; electronically published March 9, 2007.

© 2007 by The Society for Healthcare Epidemiology of America. All rights reserved. 0899-823X/2007/2804-0009\$15.00. DOI: 10.1086/513025

care, and growth and development areas; a toddler ward; a school-age ward; and an infectious diseases ward. Since 2001, there has been a dedicated pediatric intensive care unit.

Calculation of Nosocomial Bloodstream Infection Rates

The infection control committee was established in 1991 at the Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto." Since then, active surveillance to detect hospital-acquired infection has been performed in all wards in the hospital, including the pediatric wards. To identify bloodstream infection, computerized records kept by the infection control committee were reviewed. Nosocomial bacteremia rates were calculated on the basis of cases identified through active surveillance and the annual number of discharges from each ward.

Bacteremia Definition

In the pediatric department, children with suspected sepsis or fever onset during hospitalization usually have blood cultures performed for bacteremia detection. Bloodstream infections were defined according to surveillance definitions established by the Mexican health authorities.³ The presence of bacteremia was defined as the isolation of a pathogen from a blood culture performed for a patient with symptoms suggestive of infection. For patients with blood cultures in which coagulase-negative staphylococci were isolated, diagnosis of bacteremia required at least 2 blood cultures positive for the same organism; for patients with clear evidence of sepsis and no other explanation except the isolation of coagulase-negative staphylococci from a blood culture, a single positive blood culture result was considered sufficient for the diagnosis of bacteremia.

Activities Performed by the Infection Control Committee

During the 15 years of the study, several measures were instituted to decrease hospital-acquired infections. On March 1, 1991, active surveillance for hospital-acquired infections was established. Active surveillance activities include visits by infection control committee personnel to all hospitalized patients at least 3 times per week to identify clinical findings suggesting the presence of nosocomial infection, daily recording of positive culture results reported by the microbiology laboratory, and monthly infection control committee meetings. During 1994-1996, the following infection control measures were put into place: reinforcement of compliance with handwashing recommendations, reduction of the degree of crowding in the toddler ward and the NICU, and implementation of guidelines for the management of intravenous catheters and intravenous solutions. Starting in February 1994, total parenteral nutrition was prepared using a laminar air-flow hood, and intravenous infusion sets were changed at preset intervals. Starting in 1998, all intravenous fluids for pediatric patients, except fluids ordered as "urgent," were processed under the laminar air-flow hood. During 2001-2005, the number of nursing personnel was increased.

Statistical Analysis

Nosocomial bacteremia rates were compared by the χ^2 test or the χ^2 test for trend. A *P* value of less than .05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed using the R statistical package, version 2.1.0 (R Foundation for Statistical Computing), and Epi Info, version 3.3.2 (Centers for Disease Control and Prevention).

RESULTS

Nosocomial Bacteremia Rates

During the study period, 29,273 patients were discharged from the pediatric wards and actively surveyed (8,420 patients from the toddler ward, 15,079 from the school-age and infectious diseases wards, 5,041 from the NICU, and 733 from the pediatric intensive care unit). There were 868 nosocomial bacteremia episodes identified during the 15-year period. The mean annual rate of nosocomial bacteremia was 2.94 episodes per 100 discharges. Nosocomial bacteremia rates according to the year of study are shown in Figure 1. There was a significant decrease in nosocomial bacteremia rates: during the first year of surveillance (1991), the nosocomial bacteremia rate for pediatric patients was 3.69 episodes per 100 discharges, whereas during the last year of the study (2005), the rate was 1.8 per 100 discharges ($P < .001$ by the χ^2 for trend). Figure 2 shows the nosocomial bacteremia rates for the different wards. There were significant differences observed between wards. The NICU showed the highest rates, followed by the pediatric intensive care unit and toddler ward; the lowest rates were observed in the school-age and infectious diseases wards. The χ^2 test for trend revealed a significant decrease in nosocomial bacteremia rates in all wards (NICU, $P < .001$; toddler ward, $P < .001$; school-age and infectious diseases wards, $P = .036$; and pediatric intensive care unit, $P = .011$).

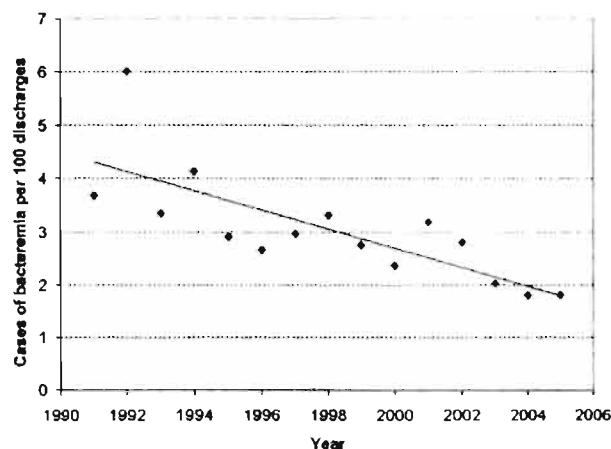


FIGURE 1. Rates of nosocomial bacteremia among pediatric patients at a general hospital in San Luis Potosi, Mexico.

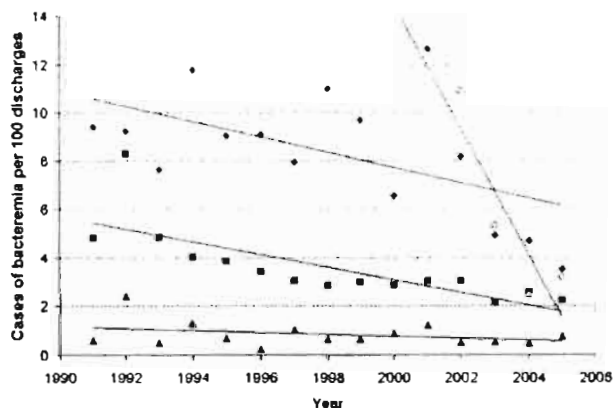


FIGURE 2. Linear regression curves showing nosocomial bacteremia rates in a neonatal intensive care unit (diamonds), a pediatric intensive care unit (circles), a toddler ward (squares), and school-age and infectious diseases wards (triangles) at a general hospital in San Luis Potosi, Mexico.

Information regarding days of intravascular catheter exposure for pediatric patients was available from 1997 onward. The overall number of intravascular catheter-days for children increased during the study period (1,141 intravenous catheter-days were registered in 1997, and 5,035 were registered in 2005). We also analyzed the mean length of stay for pediatric patients hospitalized during 1994-2005. The mean length of stay was shorter for patients admitted during 2002-2005 (9.1 days) than for patients admitted during 1994-2001 (11.4 days). The decrease in length of stay was observed in all wards except the NICU, where no overall change in length of stay was recorded between 1994 and 2005.

Microorganisms Isolated in Blood Cultures

Bacteria isolated in blood cultures during the study period are summarized in Table 1. Gram-negative bacilli were the most common organisms isolated from pediatric patients with nosocomial bacteremia. We divided the study period into 5-year intervals and compared the types of organisms that were isolated (Table 2). There was an increase in the percentage of cases caused by gram-positive organisms and a decrease in the percentage of cases caused by *Candida* species between the first and third 5-year periods. The proportion of cases caused by gram-negative organisms varied over the years but did not show a definite trend.

Mortality Associated With Nosocomial Bacteremia

The discharge status (ie, alive vs dead) of patients with nosocomial bacteremia was analyzed. Crude mortality was estimated, because it was not possible to distinguish between bacteremia-associated mortality and mortality related to other causes, on the basis of the infection control committee records. The overall mortality rate among children with noso-

comial bacteremia was 37.7% (327 of 868). There was not a significant difference in the mortality rate throughout the study period ($P = .88$ by the χ^2 test for trend). The mortality rate among children admitted to the hospital who did not present with nosocomial bacteremia was 5.3%. There were significant differences in mortality rates according to the type of organism (ie, gram-negative bacteria, gram-positive bacteria, or *Candida* species) responsible for the bacteremia episode ($P < .001$). The mortality rate was lowest among subjects with bacteremia caused by gram-positive organisms (19.2%) and highest for subjects with bacteremia caused by gram-negative organisms (45.2%); patients with fungemia had an intermediate mortality rate (35.8%).

DISCUSSION

Nosocomial infections are an important problem in current healthcare delivery. Because of the complexity of medical treatments available today, the number of risk factors for hospital-acquired infections has increased. Intensive care units have higher rates of nosocomial infections than other wards. This is explained by the need to perform invasive interventions to treat the complex and severe disorders of patients hospitalized in intensive care units. In pediatric wards, NICUs represent a particular problem because of the

TABLE 1. Pathogens Isolated From Children With Nosocomial Bacteremia at a General Hospital in San Luis Potosi, Mexico, 1991-2005

Microorganism, by class	No. (%) of children with the microorganism (n = 868)
Gram negative	
Total	546 (62.9)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	218 (25.1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75 (8.6)
<i>Escherichia coli</i>	51 (5.9)
<i>Enterobacter cloacae</i>	38 (4.4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	37 (4.2)
<i>Serratia marcescens</i>	35 (4.0)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	25 (2.9)
<i>Pseudomonas</i> species	22 (2.5)
<i>Citrobacter freundii</i>	13 (1.5)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	9 (1)
Other rods	23 (2.6)
Gram positive	
Total	213 (24.5)
Coagulase-negative staphylococci	102 (11.7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	82 (9.4)
<i>Enterococcus</i> species	15 (1.7)
Group D streptococci	5 (0.6)
Viridans group streptococci	5 (0.6)
<i>Corynebacterium</i> species	2 (0.2)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (0.1)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 (0.1)
<i>Candida</i> species	109 (12.5)

TABLE 2. Microorganisms Isolated From Children With Bacteremia at a General Hospital in San Luis Potosi, Mexico, 1991-2005

Period	Total no. of isolates recovered	No. (%) of children (n = 868)		
		With a gram-positive isolate	With a gram-negative isolate	With a <i>Candida</i> isolate
1991-1995	358	79 (22.1)	224 (62.6)	55 (15.4)
1996-2000	258	56 (21.7)	176 (68.2)	26 (10.1)
2001-2005	252	78 (31)	146 (57.9)	28 (11.1)
Overall	868	213 (24.5)	546 (62.9)	109 (12.6)

immature immune systems and deficient physical barriers of the patients, the frequent use of intravascular catheters and parenteral nutrition, and prolonged hospital stays. Thus, it is not surprising that infection rates observed in this population are among the highest registered for different types of intensive care units.⁴ Nosocomial bacteremia episodes contribute significantly to patient morbidity and mortality. Therefore, monitoring of nosocomial infection rates is of great importance to establish preventive measures.

Most reports on nosocomial infections in pediatric patients from Mexico include all infections. Avila-Figueroa et al.⁵ studied the prevalence of nosocomial infection in several pediatric hospitals, using a 1-day survey. The prevalence of nosocomial infection among children was 9.8% in that study; 19% of these infections were described as sepsis or bacteremia. Avila-Figueroa and colleagues observed large variability in infection rates, according to hospital size and the complexity of disorders treated in different hospitals. Muñoz et al.⁶ reported the frequency of nosocomial bacteremia among pediatric patients at a general hospital in León, Mexico, and documented a decrease in the infection rate between 1992 and 1997. Nosocomial bacteremia rates in our hospital were 3.69 cases per 100 discharges at the beginning of the study and 1.8 cases per 100 discharges in 2005; these rates are comparable to those observed by Muñoz et al.⁶ (3.12 cases per 100 discharges at baseline and 1.54 cases per 100 discharges during the last year in their study). Nevertheless, there are several limitations when comparing nosocomial infection rates between hospitals. Factors that have an important association with nosocomial infection rates, such as age, complexity of illness, and hospital size, vary between hospitals.⁵ Therefore, it may be more important to compare rates observed in the same institution over several years than to compare rates between hospitals. Comparison of current nosocomial infection rates to those observed in the past allows evaluation of infection control measures, prompt identification of outbreaks, and establishment of control measures to limit the number of infections.

During 1991-2005, several interventions were performed by the infection control committee that probably led to the decrease in nosocomial infections. Specific interventions to decrease the risk of bloodstream infection included preparation of intravenous fluids under a laminar air-flow hood,

frequent changes in infusion sets and venopuncture sites, and surveillance of intravenous catheter management. In addition, other measures known to decrease overall rates of hospital-acquired infection were instituted, such as reinforcing compliance with handwashing recommendations and decreasing the degree of crowding on wards. Of note, the number of intravascular catheter-days for children increased between 1997 and 2005; therefore, the decrease in nosocomial bacteremia rates does not appear to be related to a decrease in the use of intravascular therapy. The decrease in the length of stay observed during the later years of the study probably contributed to the observed reduction in rates of nosocomial bacteremia. However, the reduction in the length of stay was more notable after 2001, and no reduction was observed in the NICU, indicating that other factors, in addition to a reduction in the length of stay, influenced the reduction of infection rates.

At our hospital, gram-negative bacilli are the leading organisms associated with nosocomial bacteremia in pediatric patients. This finding is consistent with other reports from Mexico, although there is variability in the organisms observed at different hospitals. Some studies report gram-negative organisms as the organisms most commonly responsible for nosocomial bacteremia, whereas others report coagulase-negative staphylococci and other gram-positive organisms as the pathogens most frequently responsible for hospital-acquired infections.⁷⁻¹¹ Extrinsic contamination of intravenous fluids has been suggested as a possible explanation for the predominance of gram-negative bacteria as the cause of nosocomial bacteremia.¹² Although the use of a laminar air-flow hood for preparation of intravenous fluids was instituted at our hospital, medications are mixed on the wards and could be a potential source for extrinsic contamination of fluids. In developed countries, gram-positive organisms predominate, especially coagulase-negative staphylococci.¹³⁻¹⁶ These infections are frequently associated with the use of intravascular catheters. At our hospital, we observed a slight increase in the number of infections caused by gram-positive organisms during the latter years of the study; this may be related to an increase in the use of intravascular catheters in intensive care units. However, we cannot determine whether this or other factors were responsible for this observation.

The overall mortality rate among children with nosocomial

bacteremia was 37.7%. The high mortality rate we observed likely reflects the predominance of infections due to gram-negative organisms, which are usually associated with higher mortality rates than infections caused by gram-positive organisms.¹⁷⁻²⁰ Cases of bacteremia due to gram-positive organisms were associated with a lower mortality rate, as has been reported in other populations.

In conclusion, we observed a significant decrease in nosocomial bacteremia rates in pediatric wards at our hospital over a 15-year period. The creation and operation of an infection control committee allowed the hospital to monitor the occurrence of nosocomial infection and establish preventive measures, which have resulted in decreased rates of nosocomial infections. Efforts should continue in order to decrease the rate of bloodstream infections, as well as the mortality rate.

Address reprint requests to Luis Fernando Pérez-González, MD, Unidad de Vigilancia Epidemiológica, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto," Avenida Venustiano Carranza 2395, San Luis Potosí, S.L.P., México, 78210 (luisfer.luisfernando@gmail.com).

REFERENCES

- Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in pediatric intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Pediatrics* 1999; 103:e39.
- Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Morel KA, Munson E, Doern GV. Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. *J Clin Microbiol* 2003; 41:3655-3660.
- Secretaría de Salud. *Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-002-SSA2-2003, Para la Vigilancia Epidemiológica, Prevención y Control de las Infecciones Nosocomiales*. Mexico, DF; 2003.
- O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 2002; 51(RR-10):1-29.
- Avila-Figueroa C, Cashat-Cruz M, Aranda-Patron E, et al. Prevalence of nosocomial infections in children: survey of 21 hospitals in Mexico [in Spanish]. *Salud Publica Mex* 1999; 41:S18-S25.
- Muñoz JM, Macías AE, Guerrero FJ, Hernández I, Medina H, Vargas E. Control of pediatric nosocomial bacteremia by a program based on culturing of parenteral solutions in use [in Spanish]. *Salud Publica Mex* 1999; 41:S32-S37.
- Avila-Figueroa R, Ramírez-Galván L, Alpuche-Aranda C, Arredondo-García JL, Santos-Preciado JJ. Infecciones nosocomiales en un hospital pediátrico. *Salud Publica Mex* 1986; 28:616-622.
- Martínez-Aguilar G, Anaya-Arriaga MC, Avila-Figueroa C. Incidence of nosocomial bacteremia and pneumonia in pediatric unit [in Spanish]. *Salud Publica Mex* 2001; 43:515-523.
- Padilla Barrón G, Guiscafre Gallardo H, Martínez García MC, Vargas de la Rosa R, Palacios Treviño J, Muñoz Hernández O. Epidemiología de las infecciones nosocomiales en un hospital pediátrico. *Salud Publica Mex* 1986; 28:599-610.
- Díaz-Ramos RD, Solórzano-Santos F, Padilla-Barrón G, Miranda-Novales MG, González-Robledo R, Trejo y Pérez JA. Nosocomial infections: experience at a third-level pediatric hospital [in Spanish]. *Salud Publica Mex* 1999; 41:S12-S17.
- Zamora-Castorena S, Murguía-de-Sierra MT. Cinco años de experiencia con sepsis neonatal en un centro pediátrico. *Rev Invest Clin* 1998; 50: 463-470.
- Ponce-de-León- Rosales S, Macías AE. Global perspectives of infection control. In: Wenzel RP, ed. *Prevention and Control of Nosocomial Infections*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003:14-32.
- Wisplinhoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39:309-317.
- Yogaraj JS, Elward AM, Fraser VJ. Rate, risk factors, and outcomes of nosocomial primary bloodstream infection in pediatric intensive care unit patients. *Pediatrics* 2002; 110:481-485.
- Isaacs D. A ten year, multicentre study of coagulase negative staphylococcal infections in Australasian neonatal units. Australasian Study Group for Neonatal Infections. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88:F89-F93.
- Gray J, Gossain S, Morris K. Three-year survey of bacteremia and fungemia in a pediatric intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20:416-421.
- Armenian SH, Singh J, Arrieta AC. Risk factors for mortality resulting from bloodstream infections in a pediatric intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24:309-314.
- Tseng YC, Chiu YC, Wang JH, et al. Nosocomial bloodstream infection in a neonatal intensive care unit of a medical center: a three-year review. *J Microbiol Immunol Infect* 2002; 35:168-172.
- Rodríguez-Weber MA, López-Candiani C, Arredondo-García JL, Gutiérrez-Castrellón P, Sánchez-Arriaga F. Neonatal sepsis morbidity and mortality in a tertiary care hospital [in Spanish]. *Salud Publica Mex* 2003; 45:90-95.
- Karłowicz MG, Buescher ES, Surka AE. Fulminant late-onset sepsis in a neonatal intensive care unit, 1988-1997, and the impact of avoiding empiric vancomycin therapy. *Pediatrics* 2000; 106:1387-1390.

