



---

---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**“ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE COINFECCIÓN DE SARS-COV-2  
CON *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, *CHLAMYDIA PNEUMONIAE*,  
*MYCOPLASMA PNEUMONIAE*, Y *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* EN  
MUESTRAS DE HISOPADO NASOFARÍNGEO DE PACIENTES DEL  
ESTADO DE SINALOA”**

**TESIS**

QUE PRESENTA

**LIC. MOISÉS JESÚS CASTRO VALENZUELA**

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO(A) EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

DIRECTORES

**DR. JOSÉ GUADALUPE RENDÓN MALDONADO**

**DR. SERGIO ALONSO DURÁN PÉREZ**

CULIACÁN DE ROSALES, SINALOA, MÉXICO A NOVIEMBRE DE 2023



Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios  
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.  
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial  
Compartir Igual, 4.0 Internacional



## **DEDICATORIA**

A mis padres, por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida, por escucharme y aconsejarme en cada decisión importante, motivándome y ayudándome a superar cada obstáculo que se presente.

A ti Karla María, por tu amor y apoyo incondicional. Por motivarme e inspirarme para poder cumplir mis metas; por ayudarme a crecer como persona y profesionalmente, estando a mi lado en cada paso. Gracias por todo.

A Moisés Irám, la razón por la que despierto motivado y dispuesto a esforzarme por el presente y el futuro; te ama papá.

Por último, pero no menos importante, a mi yo de niño que jugaba a ser científico, seguramente está orgulloso del paso que el hoy adulto da.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la facultad de Ciencias Químico-Biológicas y al programa de Maestría en Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa por abrirme sus puertas y recibirme como estudiante.

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca otorgada.

A los doctores José Guadalupe Rendón Maldonado y Sergio Alonso Durán Pérez por aceptarme, brindarme su apoyo, confianza, asesoría y paciencia durante mi formación como Maestro en Ciencias Biomédicas.

A mis compañeros de Laboratorio de Microscopía, Rogelio, Samantha, Johana y Garibaldi, por el apoyo y asesoría que me brindaron, su compañerismo, pero sobre todo su disponibilidad para orientarme cuando fuera necesario.

A mi familia, a mis padres y hermano por el apoyo incondicional, por creer en mí y motivarme a superarme día a día, nadie confía tanto en mí como lo hacen ustedes. Gracias por hacer mis sueños los suyos; eternamente agradecido.

A mi inspiración, compañera de aventuras y hoy compañera de vida, Karla María. Este y otros logros también son los tuyos. Gracias por estar ahí cuando lo he necesitado, por tu acompañamiento en los días buenos y malos, por motivarme y creer en mí; eres parte fundamental de este logro; te amo.

# ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS .....	X
ÍNDICE DE CUADROS .....	XI
I. RESUMEN.....	1
II. ABSTRACT .....	2
III. INTRODUCCIÓN.....	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1. Neumonía Adquirida en la comunidad (NAC) .....	5
4.1.1. Fisiopatología y epidemiología de las NAC .....	5
4.1.2. Factores de riesgo .....	7
4.1.3. Agentes causales .....	7
4.1.4. Prevención de las neumonías adquiridas en la comunidad.....	8
4.2. SARS-CoV-2 .....	8
4.2.1. Características del SARS-CoV-2 .....	9
4.2.2. Epidemiología del SARS-CoV-2 .....	10
4.2.3. Patogenia del SARS-CoV-2.....	11
4.2.4. Manifestaciones clínicas del SARS-CoV-2.....	12
4.2.5. Diagnóstico y tratamiento del SARS-CoV-2.....	13
4.2.6. SARS-CoV-2 y coinfecciones bacterianas .....	17
4.3. <i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	19
4.3.1. Características de la bacteria.....	19
4.3.2. Epidemiología.....	20
4.3.3. Manifestaciones clínicas y extrapulmonares.....	20
4.3.4. Diagnóstico y tratamiento .....	21
4.4. <i>Haemophilus influenzae</i> .....	22
4.4.1. Características de la bacteria.....	22
4.4.2. Epidemiología.....	23
4.4.3. Diagnóstico.....	24
4.4.4. Tratamiento.....	25
4.5. <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	26
4.5.1. Epidemiología de la bacteria.....	26

4.5.2.	Diagnóstico y tratamiento .....	28
4.6.	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> .....	29
4.6.1.	Características de la bacteria .....	29
4.6.2.	Mecanismo de patogenia y factores de virulencia .....	30
4.6.3.	Epidemiología .....	33
4.6.4.	Manifestaciones clínicas y extrapulmonares .....	34
4.6.5.	Diagnóstico .....	37
4.6.6.	Tratamiento .....	39
V.	JUSTIFICACIÓN .....	41
VI.	HIPÓTESIS .....	42
VII.	OBJETIVOS .....	43
7.1.	Objetivo general .....	43
7.2.	Objetivos específicos .....	43
VIII.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	44
8.1.	Tipo de estudio .....	44
8.2.	Periodo de muestra .....	44
8.3.	Criterios de inclusión .....	44
8.4.	Criterios de exclusión .....	44
8.5.	Criterios de eliminación .....	44
8.6.	Materiales .....	44
8.7.	Métodos .....	45
8.7.1.	Extracción de DNA .....	45
8.7.2.	Análisis de control de calidad del DNA .....	45
8.7.3.	PCR multiplex .....	45
8.7.4.	Electroforesis en gel de agarosa .....	46
8.7.5.	Análisis estadístico .....	46
IX.	RESULTADOS .....	47
9.1.	Extracción del DNA .....	47
9.2.	Análisis de control de calidad del DNA .....	47
9.3.	PCR multiplex .....	48
9.4.	Análisis estadístico .....	49
X.	DISCUSIÓN .....	60

<b>XI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	65
<b>XII.</b>	<b>PERSPECTIVAS DEL PROYECTO</b> .....	66
<b>XIII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	67
<b>XIV.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	73
	<b>11.1. Documentos complementarios</b> .....	73
	<b>11.2. Productos Académicos</b> .....	73
<b>XV.</b>	<b>SIGLAS Y ABREVIACIONES</b> .....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	<b>Cantidad de hombres y mujeres positivos a SARS-CoV-2</b>	<b>51</b>
<b>2</b>	<b>Gel de agarosa al 2% en donde se muestra la presencia del gen beta globina de 268 pb que confirma la calidad e integridad del DNA de las muestras</b>	<b>52</b>
<b>3</b>	<b>Tabla de frecuencias de las edades de los pacientes involucrados en el estudio</b>	<b>53</b>
<b>4</b>	<b>Gráfico correspondiente a la cantidad de pacientes positivos a SARS-CoV-2 con coinfección ocasionada por la bacteria <i>Streptococcus pneumoniae</i></b>	<b>54</b>
<b>5</b>	<b>Gel de agarosa al 2% en donde se muestra la presencia del gen <i>lyt A</i> de 229 pb que confirma la presencia de coinfección ocasionada por la bacteria <i>Streptococcus pneumoniae</i></b>	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>Sintomatología hombres SARS-CoV-2 (+)</b>	<b>56</b>
<b>7</b>	<b>Sintomatología mujeres SARS-CoV-2 (+)</b>	<b>57</b>
<b>8</b>	<b>Sintomatología Hombres SARS-CoV-2 (-)</b>	<b>58</b>
<b>9</b>	<b>Sintomatología Mujeres SARS-CoV-2 (-)</b>	<b>59</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Mecanismos patogénicos y factores de virulencia de <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	32
2 Manifestaciones extrapulmonares de <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	36

## I. RESUMEN

El nuevo coronavirus, denominado SARS-CoV-2 es el agente causal de la enfermedad COVID-19 que ha afectado gravemente a todo el mundo, ocasionando un gran número de contagios y muertes debido a su gran capacidad de transmisión. Esta enfermedad se originó a finales de 2019 en Wuhan, China, y fue declarado oficialmente como pandemia por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en marzo de 2020. La situación en México no ha sido alentadora y hasta la fecha se han contabilizado un total de 7,633,355 casos de SARS-CoV-2 y 334,336 muertes en todo el país. Asimismo, las coinfecciones bacterianas se han presentado y reportado por algunos autores en todo el mundo. La literatura describe que especies como *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* y *Chlamydia pneumoniae*, así como *Aspergillus* y *Candida albicans* están implicadas en estas coinfecciones. Sin embargo, cuando se presentan suelen pasarse por alto por el personal de salud, por lo que la frecuencia real se desconoce. En nuestro trabajo encontramos 13 casos de (12.5%) de 104 en total con coinfección bacteriana ocasionada por *Streptococcus pneumoniae*, 9 eran mujeres y 4 hombres. Además, los pacientes presentaron fiebre, cefalea, disnea, gripa, rinitis, tos, dolor de garganta, entre otros síntomas al momento de la infección por este virus. Por ello, el objetivo de este trabajo de investigación es analizar y determinar la frecuencia de coinfección de bacterias de estos géneros en pacientes del estado de Sinaloa, México mediante la amplificación por PCR múltiple de diversos genes de interés representativos de cada una de las bacterias en estudio a partir de muestras de hisopados nasofaríngeos.

**Palabras clave:** SARS-CoV-2, coinfecciones bacterianas, Covid-19, PCR múltiple

## II. ABSTRACT

The new coronavirus, called SARS-CoV-2, is the causative agent of the COVID-19 disease that has seriously affected the entire world, causing a large number of infections and deaths due to its great transmission capacity. This disease originated at the end of 2019 in Wuhan, China, and was officially declared a pandemic by the World Health Organization (WHO) in March 2020. The situation in Mexico has not been encouraging and to date a total of 7,633,355 cases of SARS-CoV-2 and 334,336 deaths have been recorded throughout the country. Likewise, bacterial coinfections have been presented and reported by some authors throughout the world. The literature describes that species such as *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* and *Chlamydia pneumoniae*, as well as *Aspergillus* and *Candida albicans* are involved in these coinfections. However, when they do occur, they are often overlooked by health personnel, so the actual frequency is unknown. In our work we found 13 cases (12.5%) of 104 in total with bacterial coinfection caused by *Streptococcus pneumoniae*, 9 were women and 4 were men. In addition, the patients presented fever, headache, dyspnea, flu, rhinitis, cough, sore throat, among other symptoms at the time of infection with this virus. Therefore, the objective of this research work is to analyze and determine the frequency of coinfection of bacteria of these genera in patients from the state of Sinaloa, Mexico through multiplex PCR amplification of various genes of interest representative of each of the bacteria in study from samples of nasopharyngeal swabs.

**Keywords:** *SARS-CoV-2, bacterial coinfections, Covid-19, multiplex-PCR*

### III. INTRODUCCIÓN

A finales de 2019 se originó un nuevo brote de coronavirus (SARS-CoV-2) en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China que se propagó inmediatamente por todo el mundo y que afectó no sólo al área de la salud, sino el desarrollo de otras actividades como la educación, el trabajo y la economía (Kadam y col., 2021). Más tarde, en marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud proclamó una pandemia a causa de estos brotes y a pesar de los grandes esfuerzos por los gobiernos, la pandemia ha ocasionado numerosas pérdidas humanas y un daño considerable a los sistemas de salud de todo el mundo (Kadam y col., 2021).

En México, el contexto no fue muy alentador ya que el virus se propagó rápidamente por todo el país, siendo la Ciudad de México, Sinaloa y Baja California los que presentaron mayor índice de casos (Del-Río y col., 2020) y hasta la fecha, la Secretaría de Salud ha confirmado un total de 5,732,712 casos de SARS-CoV-2 y 324,060 muertes (SSA, 2023).

El SARS-CoV-2 utiliza al receptor convertidor de angiotensina 2 (ACE2) para ingresar al interior de la célula, mediante la interacción con la proteína S (Hu y col., 2020). Una vez dentro, el virus comienza el proceso de replicación y multiplicación para finalmente salir de la célula mediante exocitosis (Santos-López y col., 2021).

Por otro lado, las manifestaciones clínicas que ocasiona este virus pueden ser sintomáticas o asintomáticas y los pacientes se caracterizan por presentar fiebre, tos, mialgia, expectoración, cefalea y diarrea (Sifuentes-Rodríguez & Palacios-Reyes, 2020). Asimismo, algunos autores reportan la presencia de síndrome respiratorio

agudo, lesión cardíaca aguda e infecciones secundarias agudas en pacientes que se encuentran en la unidad de cuidados intensivos (Muralidar y col., 2020).

Una de las complicaciones más importantes que se presentan en pacientes positivos a este virus son las coinfecciones bacterianas que pueden ser ocasionadas por virus, bacterias y en algunos casos por hongos y, de hecho, se cree que las coinfecciones ocasionadas por bacterias tienden a aumentar el riesgo de mortalidad en los pacientes (González Soriano, 2020). La evidencia sugiere que en las coinfecciones con este virus es posible encontrar *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*, así como *Aspergillus* y *Candida albicans* como agentes causales (Oliva y col., 2020). A pesar de esto, el conocimiento acerca de estas es limitado y normalmente suelen pasarse por alto por el personal médico.

Las técnicas de diagnóstico e identificación molecular han permitido obtener avances muy importantes en el área de la salud, específicamente en el diagnóstico e identificación de los patógenos causales de enfermedades emergentes como el caso del SARS-CoV-2. Sin embargo, no todos los laboratorios cuentan con la infraestructura necesaria para la implementación de estos métodos moleculares, así como tampoco cuentan con el personal capacitado.

En este contexto, dada la gran relevancia que la pandemia tiene actualmente y de las coinfecciones bacterianas asociadas al SARS-CoV-2, es de gran relevancia el análisis por métodos moleculares, específicamente por PCR múltiple, para analizar la frecuencia de coinfección de este virus asociado a las bacterias anteriormente mencionadas.

## **IV. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **4.1. Neumonía Adquirida en la comunidad (NAC)**

La neumonía adquirida en la comunidad afecta a personas sin atención médica reciente y el espectro clínico va desde neumonía errante en un paciente sano, hasta enfermedad multilobular que puede desencadenar un shock séptico (Rider & Frazee, 2018). Asimismo, es una de las principales causas de morbilidad a nivel mundial, afectando considerablemente el área clínica y económica (Eshwara, VK y col., 2020).

Esta enfermedad puede ser causada por bacterias, virus y hongos, y se clasifica de acuerdo con lo establecido por Lanks y col., en 2019 como neumonía adquirida en la comunidad (NAC) o neumonía adquirida en el hospital (NAH), esta última se establece después de al menos 48 horas de hospitalización. Por ello, dado el potencial de ocasionar una enfermedad grave, es necesario tener un amplio conocimiento de la etiología, diagnóstico, factores de riesgo y tratamiento para un buen manejo de esta (Lanks y col., 2019).

#### **4.1.1. Fisiopatología y epidemiología de las NAC**

La neumonía adquirida en la comunidad es una infección que genera un daño en el parénquima pulmonar, ocasionando un infiltrado celular de tipo inflamatorio del espacio alveolar que ocasiona una alteración en el intercambio gaseoso y que se adquiere fuera del ambiente hospitalario o centros de cuidado prolongados (Martínez-Vernaza y col., 2018).

Algunos factores inflamatorios como las citocinas ocasionan un mayor daño al parénquima pulmonar, desencadenando una inflamación sistémica que se manifiesta

a través de fiebre, escalofríos, fatiga, hipoxemia y taquipnea (Rider & Frazee, 2018). Además, afecta a cualquier grupo de edad y factores como la ubicación geográfica, la edad, el estado inmunológico y la presencia de enfermedades crónicas tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes mellitus, insuficiencia renal e insuficiencia cardiaca congestiva, entre otras, influyen en la incidencia de NAC en adultos (Eshwara, VK y col., 2020); (Grief & Loza, 2018); (Rider & Frazee, 2018). Y aunque la neumonía adquirida en la comunidad no se considera un problema prioritario para la población, es responsable de una mortalidad importante entre los afectados (Aliberti y col., 2021).

En 2015, la neumonía fue la cuarta causa principal de muerte a nivel mundial y la principal causa de muerte en países de bajos ingresos (Lanks y col., 2019). Actualmente, se registran 3.5 millones de muertes al año ocasionadas por infecciones del tracto respiratorio inferior, siendo la neumonía la que presenta mayor mortalidad que cualquier otra enfermedad de carácter infeccioso (Rider & Frazee, 2018).

En México, las infecciones de vías respiratorias representan la primera causa de morbilidad, de acuerdo con los datos proporcionados de la Dirección General de Epidemiología en niños de 1-4 años (Montaño Pérez y col., 2016). Tanto en México como en otros países de América Latina, la incidencia real se desconoce. Sin embargo, se calcula que va de los 2 a 4 casos por cada 1000 habitantes en población mexicana; aproximadamente 200 mil y 400 mil casos anualmente (Espinosa & Lira, 2014). Asimismo, en México los estados de Tlaxcala, Puebla e Hidalgo poseen tasas de mortalidad elevadas, con 200 por cada 100 mil habitantes (Montaño Pérez y col., 2016).

#### 4.1.2. Factores de riesgo

Recientemente, se han establecido múltiples factores de riesgo asociados que aumentan la susceptibilidad de neumonía adquirida en la comunidad (Espinosa & Lira, 2014). Las enfermedades cardiovasculares crónicas, enfermedad cerebrovascular y demencia, enfermedades respiratorias crónicas como bronquitis o asma, diabetes, cáncer y enfermedad hepática crónica o renal, así como alcoholismo y tabaquismo aumentan el riesgo de presentar neumonía de este tipo (Aliberti y col., 2021).

Otros factores como el estilo de vida, mala alimentación e higiene dental deficiente, así como factores genéticos tales como las variantes en el gen FER, del protooncogén tirosina-proteína quinasa, han sido relacionados con un riesgo reducido de muerte por neumonía adquirida en la comunidad (Lanks y col., 2019).

#### 4.1.3. Agentes causales

*Streptococcus pneumoniae* lidera la lista de patógenos bacterianos aislados con mayor frecuencia (aproximadamente 25% de los casos a nivel mundial) de pacientes afectados de neumonía adquirida en la comunidad (Lanks y col., 2019). Otras especies bacterianas también son responsables de causar esta enfermedad, entre ellas se encuentran las especies bacterianas *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* y algunos virus respiratorios como rinovirus e influenza también han sido aislados de pacientes afectados (Aliberti y col., 2021).

Se ha reportado que *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila* y especies del género *Pseudomonas* también son bacterias capaces de ocasionar neumonía adquirida en la comunidad (Eshwara y col., 2020). Asimismo, *Mycobacterium*

*tuberculosis* y *Pseudomonas aeruginosa* han sido aisladas (en menor proporción) de algunos pacientes afectados. Sin embargo, estas 2 especies se asocian a pacientes con factores de riesgo específicos, por ejemplo, infección por VIH, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el uso de drogas vía intravenosa e incluso, abscesos pulmonares (Grief y col., 2018).

#### **4.1.4. Prevención de las neumonías adquiridas en la comunidad**

Una forma efectiva de prevenir este tipo de neumonías es evitar el consumo de tabaco, ya que fumar afecta al sistema inmunológico y las funciones pulmonares (Rider & Frazee, 2018). También se recomienda la vacunación anual contra la influenza a partir de los 6 años, haciendo énfasis en adultos mayores, pacientes inmunocomprometidos y con comorbilidades, así como el personal de salud (Lanks y col., 2019).

Por otro lado, es necesario mejorar la calidad de la atención de salud a los pacientes, fomentar la realización de campañas de salud en todo el personal del área de la salud y optimizar los recursos para cubrir con las necesidades que cada paciente necesite desde de su llegada hasta su salida del hospital (Montaño Pérez y col., 2016).

#### **4.2. SARS-CoV-2**

En diciembre de 2019, apareció un nuevo coronavirus en Wuhan, China, sumamente transmisible y patógeno que marcó la introducción del noveno coronavirus que infecta al ser humano y el séptimo identificado en los últimos 20 años (Holmes y col., 2021); (Hu y col., 2020).

En ese momento, se desconocía la causa y el agente causal de los afectados que presentaban síntomas similares a la neumonía y que en su mayoría procedían del

mercado de alimentos marinos de Wuhan, en la provincia de Hubei, China (Hu y col., 2020). Sin embargo, el agente causal fue definido mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el genoma fue secuenciado mediante secuenciación de última generación (Kadam y col., 2021). Gracias a esto, la Organización Mundial de la Salud declaró pandemia al brote mundial ocasionado por el SARS-CoV-2 (Hu y col., 2020). Estos avances permitieron conocer a detalle las características del virus, así como los mecanismos patogénicos que utiliza para establecer la enfermedad que hasta el día de hoy ha cobrado muchas vidas.

#### **4.2.1. Características del SARS-CoV-2**

Los coronavirus (CoV) son un grupo muy diverso de virus de ARN monocatenario (+), con forma esférica, ovalada o pleomórfica que pertenecen a la familia *Coronaviridae* y subfamilia *Coronavirinae* y su diámetro oscila entre los 60 y 140 nm (Kadam y col., 2021).

La subfamilia *Coronavirinae* se divide en 4 géneros: alfacoronavirus, betacoronavirus, gammacoronavirus y deltacoronavirus (V'kovski y col., 2021). En este caso, por ser un nuevo betacoronavirus, la secuencia genómica del SARS-CoV-2 es 79% idéntica a la secuencia del SARS-CoV y un 50% con el MERS-CoV (Hu y col., 2020). Asimismo, consta de 6 marcos de lectura abiertos (ORF) en el siguiente orden: replicasa (ORF1a/ORF1b), espiga (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N) (Hu y col., 2020). Asimismo, el tamaño aproximado del genoma de este virus es de 29,891 pb y el contenido de G+C es muy bajo, sólo el 38% aproximadamente en comparación con otros coronavirus (Kadam y col., 2021).

Actualmente, es bien sabido que los murciélagos son huéspedes naturales del alfa y betacoronavirus, y hasta hoy, el ancestro más cercano del SARS-CoV-2 es un coronavirus de murciélago llamado RaTG13, que comparte el 96.2% de similitud en secuencia genómica y al mismo tiempo, respalda el hecho de que muy probablemente el SARS-CoV-2 apareció por primera vez en los murciélagos (Hu y col., 2020).

#### **4.2.2. Epidemiología del SARS-CoV-2**

Durante el último mes de 2019, varias personas comenzaron a manifestar sintomatología similar a neumonía de etiología desconocida en Wuhan, China (Muralidar y col., 2020). Los primeros reportes de estos pacientes sugerían que la transmisión de este virus se daba por vía respiratoria, y más adelante, se confirmó que la transmisión se daba mediante gotitas respiratorias, aerosoles, contacto directo con superficies contaminadas y en algunos casos por vía fecal-oral (Harrison y col., 2020). Posteriormente, se confirmó que este virus puede permanecer viable en aerosoles por al menos 3 horas y en plástico y acero inoxidable adquiere mayor estabilidad, permaneciendo por hasta 72 horas (Fernández-Camargo & Morales-Buenrostro., 2020).

A principios de 2020, la Organización Mundial de la Salud confirmó que la cepa aislada de estos pacientes afectados se trataba de un nuevo coronavirus (Muralidar y col., 2020) y no fue sino hasta el 11 de marzo de 2020 cuando la Organización Mundial de la Salud declaró oficialmente como pandemia a este brote ocasionado por SARS-CoV-2 (Hu y col., 2020).

Pasados los primeros 210 días de la pandemia, aproximadamente 30 semanas, este virus altamente contagioso ha causado 761,779 muertes en todo el mundo y el

número de muertes ido en aumento con el paso del tiempo (Muralidar y col., 2020). Cabe resaltar que, la magnitud y la gravedad de los casos depende de múltiples factores, como son la edad, raza, el clima de cada región, y un aspecto muy importante, el sistema de salud de cada país que permitirá establecer medidas de contención adecuadas que limiten el número de casos nuevos entre sus habitantes (Del-Río y col., 2020).

En México, se detectó el primer caso el 27 de febrero en 2020 en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de un paciente que había llegado de Italia mientras que la primera muerte ocasionada por este virus ocurrió el 18 de marzo del mismo año (Del-Río y col., 2020). A su vez, la propagación de la enfermedad ocurrió en todo el país, pero la Ciudad de México, Sinaloa y Baja California presentaron el mayor índice de casos, asimismo, la letalidad confirmada para mayo de 2020 fue de 6.6 en menores de 60 años y 24% en mayores de 60 años (Del-Río y col., 2020).

Actualmente en México, la Secretaría de Salud ha confirmado 7,633,355 casos totales de SARS-CoV-2 y un total de 324,060 muertes. Asimismo, la tasa de incidencia de casos acumulados es de 4,405 por cada 100,000 habitantes, con un predominio en mujeres del 52.1% (SSA, 2023).

#### **4.2.3. Patogenia del SARS-CoV-2**

Para ingresar a la célula el SARS-CoV-2 utiliza el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) mediante la interacción de este receptor con la proteína S del virus (Hu y col., 2020). Este se encuentra en el tejido respiratorio superior (cavidad nasal y bucal) e inferior, a nivel de los alveolos pulmonares (Santos-López y col., 2021). Específicamente, se encuentra en los neumocitos I y II, aunque

también, ha sido encontrado en intestino delgado, tejido endotelial, corazón, riñones y otros tejidos (Fernández-Camargo & Morales-Buenrostro, 2020) lo que explica la variedad de manifestaciones clínicas de este virus.

Las proteínas S de este virus son glicoproteínas de fusión homotriméricas de clase I que se dividen en 2 partes funcionales distintas, S1 y S2 que, como ya se mencionó, se unen a los receptores ACE2 (V'kovski y col., 2021). Una vez que penetra la célula del huésped las células del epitelio alveolar y las vías respiratorias, así como las células endoteliales vasculares y los macrófagos alveolares se vuelven sus objetivos principales (Harrison y col., 2020).

A continuación, el virus libera su genoma en el citoplasma de la célula del huésped y se inician una serie de eventos transcripcionales de múltiples genes virales que, a su vez, permitirán la síntesis de nuevas copias de su genoma que van a ser utilizadas para la traducción de proteínas no estructurales (NSPS), el complejo viral de replicación-transcripción (RTC) o para el empaquetamiento de nuevos viriones (V'kovski y col., 2021).

Posterior al ensamblaje de los nuevos viriones, la partícula viral adquiere forma de vesícula en la membrana plasmática para que finalmente los viriones salgan de la célula por medio de exocitosis (Santos-López y col., 2021).

#### **4.2.4. Manifestaciones clínicas del SARS-CoV-2**

La infección por este virus puede ser sintomática o asintomática. Dentro de las principales manifestaciones clínicas que causa este virus se encuentran el daño a las vías respiratorias inferiores, fiebre, tos, mialgias, fatiga, expectoración, dolor de cabeza y diarrea (Sifuentes-Rodríguez & Palacios-Reyes, 2020). También, se han reportado

casos de otro tipo de manifestaciones clínicas como síndrome de dificultad respiratoria aguda, lesión cardíaca aguda e infecciones secundarias agudas en pacientes de etapa avanzada hospitalizados de cuidados intensivos (Muralidar y col., 2020).

Algunos autores han reportado que el riesgo no fue mayor en embarazadas, sin embargo, se reportó un caso de transmisión transplacentaria de una madre infectada a un recién nacido, aunque cabe mencionar que fue un caso aislado (Hu y col., 2020).

Este virus posee una tasa de transmisibilidad elevada que puede deberse a las características virológicas únicas del virus (Hu y col., 2020) y el periodo de incubación es de 1 a 14 días, con un promedio de 5-6 días (Del-Río y col., 2020).

Las manifestaciones radiológicas incluyen afección bilateral pulmonar y los estudios de laboratorio arrojan leucopenia, linfopenia, niveles elevados de transaminasas y troponina I, proteína C reactiva y velocidad de sedimentación globular elevadas, así como procalcitonina negativa en la mayoría de los casos (Sifuentes-Rodríguez & Palacios-Reyes, 2020).

Existen otros síntomas menos frecuentes que han sido reportados como hemoptisis, dolor de garganta, dolor de pecho, escalofríos y náuseas (Hu y col., 2020). Sin embargo, estos pueden verse modificados durante la enfermedad de acuerdo con las características de cada paciente.

#### **4.2.5. Diagnóstico y tratamiento del SARS-CoV-2**

Como todas las enfermedades, especialmente las ocasionadas por microorganismos emergentes, el diagnóstico oportuno es muy importante en la prevención y control de la sintomatología de los pacientes afectados.

Las pruebas de detección para la enfermedad causada por el SARS-CoV-2 se basan en la detección directa o indirecta del virus. Las pruebas de detección directa identifican al virus a nivel de su genoma, en donde encontramos las pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), o por las proteínas virales, en donde se utilizan pruebas rápidas de detección de antígenos a través de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 y las pruebas de detección indirecta identifican los elementos de la respuesta a la infección viral del huésped, como anticuerpos específicos en donde se utilizan ensayos ligados a enzimas como la prueba ELISA, el ensayo quimioluminiscente (CLIA), o el ensayo de flujo lateral (LFA) (Martinez-Liu y col., 2021).

El SARS-CoV-2 se puede detectar a partir de hisopado de garganta, nasofaríngeo, esputo y líquido bronquial, sin embargo, la carga viral es mayor si la muestra se toma a partir del tracto respiratorio inferior (Hu y col., 2020).

La prueba RT-qPCR ha sido utilizada en todo el mundo para la identificación y confirmación del SARS-CoV-2, por ello, es conocida como el estándar de oro en el diagnóstico de este y, de hecho, en México los únicos protocolos aprobados para su uso se basan en la detección del ácido nucleico de este virus utilizando esta prueba molecular (Martinez-Liu y col., 2021). Además de esto, también en México se utiliza el protocolo Berlín para detectar el virus utilizando pruebas de ácidos nucleicos en muestras de secreción de nasofaringe, diseñadas para amplificar los genes RdPR y E durante la fase aguda de la infección viral (Del-Río y col., 2020).

Hu y col., (2020) sugirieron que las pruebas serológicas que detectan anticuerpos para la proteína N o S de este virus, podrían complementar el diagnóstico.

Asimismo, tal como lo comentan múltiples autores, es necesario establecer de manera objetiva los porcentajes de sensibilidad y especificidad de estas pruebas, así como verificar, de acuerdo con lo comentado por Martínez-Liu y col., (2021) si este tipo de pruebas pueden seguir implementándose como pruebas efectivas en el diagnóstico inmunológico de este virus.

Por otro lado, la Organización Mundial de la Salud recomienda únicamente los siguientes 7 protocolos para el diagnóstico del SARS-CoV-2 mediante PCR en tiempo real: el diseñado por el CDC de China para los genes ORF1ab y N; el del Instituto Pasteur de París, Francia que amplifica los genes RdRp IP2 y RdRp IP4; el de Charité, Alemania para los genes RdRp, E y N; el del CDC de los Estados Unidos diseñado para los genes N1 y N2; el de HKU, RAE de Hong Kong que amplifica los genes ORF1b-nsp14 y N; el del Instituto Nacional de Tailandia para el gen N y el del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas de Japón que amplifica los genes ORF1a y S (Martínez-Liu y col., 2021). A pesar de esto, múltiples empresas han desarrollado y lanzado al mercado kits de diagnóstico que ya contienen todos los reactivos necesarios para la identificación de este virus en cualquier laboratorio.

Por otro lado, no se ha diseñado un tratamiento específico para la enfermedad causada por SARS-CoV-2 (Covid-19) a pesar de que algunos tratamientos han mostrado beneficios en algunos pacientes en diferentes partes del mundo (Hu y col., 2020).

Durante el inicio del brote en Wuhan China, se utilizaron diversos fármacos en el tratamiento de los pacientes afectados por este virus, pero que tenían efectividad ante otros virus como el interferón alfa, rivabirina y la combinación de lopinavir con ritonavir

(Santos-López y col., 2021). En otros países, comenzó a utilizarse el plasma de pacientes convalecientes con la creencia de que los anticuerpos generados de estos pacientes recuperados servirían para tratar a los pacientes enfermos por este virus (Del-Río y col., 2020).

Hasta el día 2 de octubre del año 2020, se contaba con aproximadamente 405 medicamentos en desarrollo para el SARS-CoV-2 y un total de 318 ensayos clínicos en humanos orientados a probar una variedad de fármacos dirigidos a inhibir la entrada del virus al interior de la célula (cloroquina e hidroxiclороquina), inhibir la replicación de este virus (remdesivir, favilavir, ribavirina, lopinavir y ritonavir A), agentes inmunomoduladores (tocilizumab y sarilumab), la terapia con anticuerpos monoclonales y por último, la vacunación (Hu y col., 2020).

Es bien sabido que la vacunación es el método más efectivo si se habla de prevenir y controlar a largo plazo las enfermedades virales, en este caso, la ocasionada por el SARS-CoV-2. En este ámbito, se han dado grandes avances con el paso de los años y los avances en la investigación dentro de este campo, por ejemplo, se han diseñado vacunas de ARNm, vacunas de vectores virales, vacunas inactivas y de subunidades proteicas (Fiolet y col., 2022).

En condiciones normales, producir una vacuna requiere de al menos 10 años y arriba del 90% de las candidatas no logran salir al mercado, pero pesar de esto, se llevó a cabo una producción acelerada de vacunas para tratar de poner fin a la pandemia ocasionada por el SARS-CoV-2 (Awadasseid y col., 2021). Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud detectó cierto monopolio y capitalismo en la

producción de vacunas de parte de algunos países, ya que la administraban varias dosis a su población y no la ponían a disposición de otros países.

Aún con los avances en el diseño de fármacos y vacunas, así como la aplicación de estas en todo el mundo, las medidas de prevención e higiene como el distanciamiento social, el lavado constante de manos y el uso de gel antibacterial son las más importantes para disminuir la transmisión y nuevos casos de SARS-CoV-2 (Del-Río y col., 2020).

#### **4.2.6. SARS-CoV-2 y coinfecciones bacterianas**

La aparición de un nuevo coronavirus a finales de 2019 desencadenó el origen de un brote a nivel mundial, que fue declarado pandemia por la Organización Mundial de la Salud en marzo de 2020. Este brote representó un desafío abrumador para las instituciones de salud en todo el mundo en términos de atención, cobertura, prevención, diagnóstico y tratamiento. A su vez, es bien sabido que las coinfecciones bacterianas con SARS-CoV-2 han estado presentes en algunos pacientes en todo el mundo, sin embargo, el conocimiento acerca de las mismas es limitado y generalmente, se pasan por alto (Oliva y col., 2020).

Lai y col., (2020) establecieron que el SARS-CoV-2 posee la capacidad de establecer coinfecciones con otros virus, bacterias y hongos. Sin embargo, en su estudio, la prevalencia de las coinfecciones fue variada, y reportaron un caso de un paciente positivo a este virus con *Aspergillus*.

Asimismo, Oliva y col., (2020) describieron en un estudio realizado en Europa que los pacientes positivos a SARS-CoV-2 podrían estar coinfectados con bacterias

causantes de neumonías atípicas, por ejemplo, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*.

Por otro lado, los métodos de detección que permiten la identificación de coinfecciones bacterianas en pacientes positivos a este virus fueron implementados rápidamente por los principales laboratorios a nivel mundial e integrado a los paneles de detección múltiple que ya existían en el mercado, entre los que se encuentran, QIAstat-Dx® Respiratory 2019-nCoV Panel de la marca Qiagen y BioFire FilmArray RP-2.1 (BioFire FilmArray Respiratory Panel-2 plus SARS- CoV-2, de la marca bioMérieux Francia (Lai y col., 2020).

Estos hallazgos necesitan ser considerados por la comunidad médica de todo el mundo y la detección de este virus debe integrarse a los métodos de diagnóstico de rutina. Es importante continuar realizando nuevos estudios que permitan entender el papel de estas coinfecciones bacterianas en el pronóstico de la enfermedad ocasionada por este virus, así como obtener la prevalencia, el riesgo de coinfección entre los pacientes, los principales agentes involucrados en estas y el impacto que tienen en los pacientes y el sistema de salud. Asimismo, es necesario continuar estableciendo medidas de higiene y prevención que disminuyan el número de nuevos casos a nivel mundial, así como continuar con la aplicación de vacunas de manera eficiente.

A continuación, se describirán algunas características importantes de las principales bacterias asociadas a coinfecciones en pacientes positivos a SARS-CoV-2.

### **4.3. *Chlamydia pneumoniae***

#### **4.3.1. Características de la bacteria**

La bacteria *Chlamydia pneumoniae* es una bacteria intracelular obligada Gram negativa cuyo tiempo de incubación es de 3-4 semanas aproximadamente, y actualmente, sólo se ha podido identificar 1 cepa de *Chlamydia pneumoniae*, siendo el ser humano el único hospedero conocido para la misma (di Pietro y col., 2019); (Gautam & Krawiec, 2021).

Pertenece al género *Chlamydia* y es capaz de afectar el sistema respiratorio transmitiéndose de persona a persona mediante aerosoles o gotitas respiratorias (Gautam & Krawiec, 2021); (Premachandra & Jayaweera, 2021). Cabe resaltar que todas las especies de este género se reproducen mediante un ciclo único que involucra 2 formas morfofuncionales distintas: el cuerpo elemental infeccioso (EB) de aproximadamente 0.3-0.35  $\mu\text{m}$  de diámetro y el cuerpo reticulado reproductivo (RB) de aproximadamente 0.5-2.0  $\mu\text{m}$  de diámetro (Miyashita, 2022).

Anteriormente, era conocido como el agente respiratorio agudo de Taiwán (TWAR) y es el agente causal responsable de sinusitis, faringitis, neumonía, bronquitis, entre otras manifestaciones clínicas de importancia médica (di Pietro y col., 2019); (Premachandra & Jayaweera, 2021).

Posee la capacidad de diseminarse a través de varios sistemas desde los pulmones gracias a las células mononucleares de sangre periférica y localizarse en los tejidos extrapulmonares, tales como arterias, articulaciones, huesos y el sistema nervioso central, logrando establecer enfermedades de importancia clínica como

aterosclerosis, Alzheimer, artritis inflamatoria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y asma (di Pietro y col., 2019).

#### **4.3.2. Epidemiología**

*Chlamydia pneumoniae* ocasiona el 10% de las neumonías de este tipo y el 5% de las bronquitis, faringitis y sinusitis (Premachandra & Jayaweera, 2021). Asimismo, es la bacteria intracelular más común implicada en infecciones respiratorias y que en algunos casos ocasiona manifestaciones extrapulmonares (Gautam & Krawiec, 2021).

A pesar de que en gran parte de los casos la infección por esta bacteria es asintomática o muy leve, puede ocasionar alguna de las manifestaciones clínicas mencionadas anteriormente y presenta una prevalencia de anticuerpos del 50% a los 20 años y del 80% a los 60-70 años, lo que puede indicar que las personas se infectan y reinfectan durante toda la vida (Porritt & Crother, 2016).

Puede diseminarse de forma endémica o epidémica, afectando gravemente a pacientes inmunocomprometidos y en países occidentales las personas de 5-15 años presentan una tasa elevada de nuevas infecciones (Gautam & Krawiec, 2021).

#### **4.3.3. Manifestaciones clínicas y extrapulmonares**

Como se mencionó anteriormente, esta bacteria ocasiona neumonía, faringitis, sinusitis y otras enfermedades extrapulmonares como aterosclerosis, Alzheimer, artritis inflamatoria, cáncer de pulmón, esclerosis múltiple, esquizofrenia, y algunas otras como la enfermedad de Behcet, cirrosis biliar primaria y diabetes tipo 2 (di Pietro y col., 2019); (Porritt & Crother, 2016); (Premachandra & Jayaweera, 2021).

Estudios previos sugieren la existencia de una relación entre *Chlamydia pneumoniae* y el asma, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva, aterosclerosis y

enfermedad de las arterias coronarias, lo que fortalece las manifestaciones clínicas y extrapulmonares sugeridas por otros autores anteriormente (Gautam & Krawiec, 2021); (Roulis y col., 2013)

Particularmente en asma, algunos estudios sugieren que *Chlamydia pneumoniae* interviene en el inicio y la exacerbación del asma, mientras que en estudios serológicos los niveles elevados de IgG se asociaban a la incidencia de asma reciente, asma alérgico crónico y la gravedad del asma crónico; incluso, aunque aún se desconocen los mecanismos moleculares involucrados, se cree que *Chlamydia pneumoniae* promueve el desarrollo de asma induciendo una respuesta inmunitaria Th2 (Porritt & Crother, 2016).

Por último, la relación de *Chlamydia pneumoniae* y enfermedades cardiovasculares se estableció en 1988 por Saikku y col., (1988) y desde ese momento, múltiples estudios (serológicos, epidemiológicos y moleculares) han confirmado el rol de *Chlamydia pneumoniae* en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares (di Pietro y col., 2019).

#### **4.3.4. Diagnóstico y tratamiento**

Al analizar *Chlamydia pneumoniae* al microscopio electrónico es posible ver un cuerpo elemental infeccioso (EB) en forma de pera rodeado por un espacio periplásmico (Porritt & Crother, 2016). Las técnicas moleculares son costosas y requieren personal capacitado para la implementación de estas, por ello la serología es el más utilizado en el diagnóstico de infecciones causadas por *Chlamydia pneumoniae* (Miyashita, 2022).

Asimismo, el diagnóstico de neumonía causada por *Chlamydia pneumoniae* es complicado por las siguientes razones: en primer lugar, la aparición de anticuerpos IgM contra esta bacteria es tardía; en segundo lugar, la mayoría del personal de salud utiliza la prueba ELISA y se sabe que esta prueba arroja resultados falsos positivos para IgM en pacientes sanos como en pacientes con infecciones respiratorias; y en tercer lugar, esta bacteria es poco frecuente en neumonías adquiridas en la comunidad y la gravedad de las infecciones causadas por la misma suelen ser leves, asintomáticas o levemente sintomáticas Miyashita (2022).

*Chlamydia pneumoniae* suele tratarse con macrólidos y tetraciclinas, incluso con fluoroquinolonas; cabe destacar que la doxicilina, azitromicina, claritromicina, levofloxacina o moxifloxacina es efectivo en pacientes afectados por esta bacteria (Carroll, y col., 2016). La información acerca de la eficacia de estos antibióticos es limitada, por ello, son necesarios más estudios que aporten datos actualizados y confiables acerca del uso de estos antibióticos frente infecciones ocasionadas por *Chlamydia pneumoniae*.

#### **4.4. *Haemophilus influenzae***

##### **4.4.1. Características de la bacteria**

*Haemophilus influenzae* es una bacteria en forma de cocobacilo Gram negativo responsable de múltiples infecciones de las mucosas a nivel de las vías respiratorias, y también, puede ser el agente causal de otras enfermedades más graves como meningitis bacteriana (Wen y col., 2020).

Esta bacteria presenta un tamaño pequeño (0.3-1  $\mu\text{m}$ ), es anaeróbica facultativa y capnófila (crece en altas concentraciones de dióxido de carbono) de la familia

*Pasteurellaceae* y requiere de un medio de cultivo que contenga 2 factores eritrocitarios (factor X y el factor V), lo que favorece el crecimiento en agar chocolate (Khattak & Anjum, 2021).

Algunas cepas de esta bacteria están encapsuladas, mientras que otras no, y actualmente, existen 6 serotipos de *Haemophilus influenzae* con cápsula (a-f) en base al polisacárido que se encuentra en la cápsula (Slack, 2015). La presencia de este polisacárido es el más importante en el establecimiento de la patogenia de esta bacteria, sin embargo, existen otros factores de virulencia importantes como el lipooligosacárido, proteasas de IgA y proteínas de la pared celular no capsulares (Butler y col., 2018).

#### **4.4.2. Epidemiología**

La transmisión de esta bacteria ocurre a través de la propagación de gotitas respiratorias o mediante el contacto con secreciones respiratorias y cabe resaltar que, *Haemophilus influenzae* sólo se encuentra en los seres humanos y coloniza nasofaringe, garganta, y en algunos casos aunque en menor medida las conjuntivas y el tracto genital (Slack, 2015). De hecho, la tasa de portadores nasofaríngeos de esta bacteria es elevada en niños y la tasa de notificación es mayor en pacientes < 1 mes de edad (Wen y col., 2020).

La incidencia de infecciones causadas por esta bacteria en menores de 5 años ha disminuido de manera considerable en un 99% aproximadamente en Estados Unidos (Butler y col., 2018). A su vez, otros países como Alemania, Japón y China también han experimentado disminución en la incidencia de infecciones de este tipo. Sin embargo, las infecciones ocasionadas por *Haemophilus influenzae* sigue siendo

un problema de salud pública en todo el mundo, específicamente en países en desarrollo (Wen y col., 2020).

En 2006 la Organización Mundial de la Salud emitió un comunicado en el que se demuestra que la administración de una dosis de refuerzo Hib durante el segundo año de vida puede brindar protección adicional y en México, la vacuna comenzó a ser implementada a partir del año 2000, luego de demostrar que se alcanzaban altas concentraciones de anticuerpos anti-PRP al mes de la vacunación (Rodríguez y col., 2010).

#### **4.4.3. Diagnóstico**

El aislamiento de esta bacteria puede darse a través de líquido cefalorraquídeo (LCR), sangre, líquido pleural o líquido sinovial y el crecimiento óptimo se da en agar chocolate con suplementos como el factor X termoestable y el factor V termolábil (Butler y col., 2018).

Jain y col., (2015) secuenciaron el gen 16S rRNA a partir de muestra de esputo para identificar *Haemophilus influenzae* en un paciente con NAC; este método demostró ser efectivo en la identificación de esta bacteria. Asimismo, otras técnicas como el inmunoensayo enzimático, inmunoelectroforesis y reacción en cadena de la polimerasa permiten la identificación de esta bacteria, aunque cabe resaltar que, la PCR brinda una sensibilidad diagnóstica del 72-92% para Hib (Butler y col., 2018). También, la tipificación de secuencias multilocus (MLST) es un método muy preciso que permite caracterizar diversas cepas de patógenos bacterianos (entre ellos *Haemophilus influenzae* con o sin cápside) mediante la secuenciación de fragmentos internos de siete genes domésticos (Butler y col., 2018); (Wen y col., 2020).

#### 4.4.4. Tratamiento

Normalmente, las infecciones causadas por *Haemophilus influenzae* se tratan con betalactámicos, aminopenicilinas y cefalosporinas (Wen y col., 2020). Sin embargo, el tratamiento ha cambiado desde hace 20 años gracias al aumento en la resistencia a los betalactámicos y hasta 40-50% en aminopenicilinas (Butler y col., 2018).

En 1993, se reportó el primer caso de *Haemophilus influenzae* con resistencia a las fluoroquinolonas y en 2004 apareció el primer caso de *Haemophilus influenzae* resistente a las mismas en niños; desde ese momento, la resistencia a fluoroquinolonas se propagó por el mundo aumentando la cantidad de casos considerablemente (Wen y col., 2020).

Por otro lado, *Haemophilus influenzae* también presenta resistencia frente a los macrólidos y dentro de los mecanismos por los cuales adquiere resistencia se encuentran la adquisición de la bomba de salida del fármaco codificada por el gen de resistencia, la sobreexpresión de bombas de salida cromosómicas de múltiples fármacos, la adquisición de 23S rRNA metilasa codificada por el gen de resistencia, entre otros (Wen y col., 2020).

Actualmente, el tratamiento recomendado incluye cefalosporinas de tercera generación como ceftriaxona o cefotaxima, así como dexametasona dentro de la primera hora de la primera dosis de antibiótico (Butler y col., 2018). Adicionalmente, Taylor y col., (2019) demostraron que la azitromicina redujo la carga de *H. influenzae* en las vías respiratorias en pacientes con asma no controlada persistente en comparación con un medicamento placebo, pero no cambió la carga bacteriana total.

La vacunación es un factor importante, por ello el Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización recomienda la administración de la vacuna Hib a partir de los 2 meses de edad bajo el siguiente esquema: la primera dosis a las 6 semanas de edad y se recomienda una dosis de refuerzo entre los 12 y 15 meses de edad (Butler y col., 2018); es necesario que las dosis se administren con al menos 8 semanas de diferencia o mínimo de 4 semanas (Butler y col., 2018).

#### **4.5. *Streptococcus pneumoniae***

La bacteria *Streptococcus pneumoniae* es uno de los agentes causales de infecciones fatales y la causa más común de neumonía y meningitis (Høyer-Engholm y col., 2017). También, es bien sabido que, desde hace más de 100 años, esta bacteria ha sido estudiada para mejorar el conocimiento de esta, desde la identificación, el diagnóstico y el tratamiento, así como la prevención (Jacobs., 1992).

Este microorganismo cuenta con factores de virulencia que están directamente involucrados en el proceso infeccioso y las características moleculares de estos factores continúan siendo dilucidados hoy en día (Mitchell & Mitchell, 2010).

##### **4.5.1. Epidemiología de la bacteria**

Es una de las principales causas de neumonía (Høyer-Engholm y col., 2017), meningitis, sepsis, bacteriemia y otitis en países en desarrollo; además, es uno de los microbios que componen la flora del tracto respiratorio superior (Varghese y col., 2017). Asimismo, es capaz de ingresar y colonizar la vía respiratoria superior de los seres humanos (Weiser y col., 2020).

Posee una cápsula polisacárida que es el principal factor de virulencia de esta bacteria y se ha reportado que existen más de 90 serotipos basados en la composición

de esta cápsula (Méndez-Lage y col., 2015). Además, cuenta con un mecanismo de remodelación de su genoma, captando e incorporando DNA exógeno, que facilita su propagación, resistencia a los antibióticos y evasión de la inmunidad inducida por la vacunación (Weiser y col., 2020).

Por otro lado, es una bacteria con relevancia a nivel mundial ya que ocasiona neumonía, meningitis, otitis media y en algunos casos septicemia (Méndez-Lage y col., 2015). Fue descubierta en 1881 y se ha reportado que también posee la capacidad de ocasionar conjuntivitis, meningitis y neumonía adquirida en la comunidad (Zivich y col., 2018).

Los datos de la investigación de Høyer-Engholm y col., en 2017, esta bacteria fue responsable de las dos terceras partes de los 14.5 millones de casos reportados en África y Asia en 2013. También, los mismos autores mencionan que a pesar de la información con la que se cuenta a la fecha, continúan habiendo preguntas por resolver para obtener mejor conocimiento y encontrar mejores alternativas. Por ejemplo, la resistencia a antibióticos mostrado por esta bacteria que sigue siendo un problema actual pero que será discutido más adelante.

Actualmente, continúa siendo la causa principal de enfermedad en niños y adultos, y se estima que tan sólo en el año 2000 se produjeron 14.5 millones de casos en el mundo de infección neumocócica grave, ocasionando más de 800 mil muertes aproximadamente, de acuerdo con lo reportado por Deng y col, en 2013.

En México, los datos de la Secretaría de Salud establecen que en 2016 la incidencia de la enfermedad ocasionada por esta bacteria fue de 0.035 por cada 100

mil habitantes, pero este dato es difícil de calcular debido a las diferencias existentes entre cada país y estados de cada país, no sólo en México (Vacunología, 2022).

Fue incluida por la Organización Mundial de la Salud en 2017 como uno de los microorganismos de atención prioritaria y gracias al continuo aumento de la morbilidad, la creciente en la resistencia a los antibióticos, entre ellos la penicilina, ha captado la atención de los especialistas a nivel mundial con el objetivo de mejorar las estrategias de intervención ante esta especie bacteriana (Weiser y col., 2020).

#### **4.5.2. Diagnóstico y tratamiento**

Con el paso del tiempo se ha ido avanzando en el entendimiento de los procesos moleculares propios de esta bacteria, eso ha permitido obtener mejores alternativas terapéuticas y diagnósticas para mitigar el daño ocasionado por la misma.

Algunos estudios recientes han aportado distintas maneras de diagnosticar esta bacteria mediante métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa para los genes *lytA* y 16S rRNA, seguido de una RFLP; también se amplifican los genes *rpoB* y *sodA* y se ha llegado a utilizar la tipificación de secuencias multilocus (MLST) y el análisis de secuencias multilocus (MLSA) (Varghese y col., 2017).

En cuanto al tratamiento ha habido problemas desde el primer momento en que se reportó la resistencia a antibióticos de esta bacteria. A la fecha se ha reportado resistencia a penicilina, amoxicilina y cefotaxima/ceftriaxona (Ruiz y col., 2001). Por ello, tal como lo sugiere Cherazard y col., (2017) se requiere la generación de nuevas alternativas terapéuticas que disminuyan la cantidad de afectados por esta bacteria.

La enfermedad ocasionada por esta bacteria ocasiona un gran número de discapacidad permanente y muertes, por ello, tal como lo recomienda la Asociación Mexicana de Vacunología, es importante mantenerse al día con las vacunas y seguir adecuadamente el esquema de vacunación, ya que las vacunas antineumocócicas brindan protección frente a los serotipos existentes (Vacunología, 2022).

#### **4.6. *Mycoplasma pneumoniae***

En 1898, Edmond Nocard y Emile Roux aislaron la primera micoplasma en cultivo causante de la pleuroneumonía bovina y, posteriormente, en 1937 fue aislado e identificado la primera micoplasma humano por Louis Dienes y Geoffrey Edsall a partir de un absceso de la glándula de Bartolino. Años más tarde, en 1944 fue aislado otra micoplasma por el Dr. Monroe D. Eaton de una muestra de esputo de un paciente con neumonía atípica y finalmente, en 1962 Chanock y col., establecieron la designación taxonómica de *Mycoplasma pneumoniae* (Surinder, 2018).

##### **4.6.1. Características de la bacteria**

*Mycoplasma pneumoniae* es una bacteria de tamaño muy pequeño que va de 0.1-0.2  $\mu\text{m}$  de ancho y 1-2  $\mu\text{m}$  de largo y en comparación con otros bacilos típicos, carece de pared celular y sus colonias bacterianas muy rara vez superan los 100  $\mu\text{m}$  de diámetro (Saraya, 2017).

Su genoma fue secuenciado por primera vez en 1996 por Himmelreich y col., se demostró que constaba de 816,394 pb y 687 genes, lo que permitió concluir que poseía características limitadas e incapacidad de sintetizar pared celular rígida dado el pequeño tamaño del genoma (Parrott y col., 2016).

La incapacidad de sintetizar permite el contacto de la membrana bacteriana con la célula huésped, lo que facilita el intercambio de moléculas vitales para el crecimiento y proliferación de esta bacteria. Asimismo, *Mycoplasma pneumoniae* posee una proteína multifuncional denominada toxina del síndrome de dificultad respiratoria adquirida en la comunidad (CARDS) y que es responsable de la unión a la proteína A, lo que permite el ingreso a las células huésped mediante endocitosis (Surinder, 2018). Este y otros mecanismos patogénicos de esta bacteria serán explicados a detalle a continuación.

#### **4.6.2. Mecanismo de patogenia y factores de virulencia**

*Mycoplasma pneumoniae* codifica para muchos factores de virulencia como las adhesinas, glicolípidos, toxina del síndrome de dificultad respiratoria adquirida en la comunidad (CARDS) y algunos polisacáridos de tipo capsular. Sin embargo, dentro de estos factores de virulencia, los más importantes son la citoadherencia y la movilidad (Bajantri y col., 2018); (Jiang y col., 2021).

Los mecanismos patogénicos inician una vez la bacteria se adhiere a las células ciliadas del tejido epitelial del huésped y establece contacto con el orgánulo de unión de aproximadamente 290 nm de longitud (Waites y col., 2017). Cabe resaltar que, las principales proteínas que facilitan el anclaje y citoadherencia son P30 y P1 (Bajantri y col., 2018).

La toxina del síndrome respiratorio adquirido en la comunidad (CARDS) es una toxina bacteriana de adenosina difosfato (ADP) ribosilante y vacuolizante codificada por el gen MPN 372 (Jiang y col., 2021). Las células del huésped quedan expuestas a la toxina CARDS, lo que ocasiona la pérdida de los cilios, disminución en el consumo

de oxígeno, utilización de glucosa, absorción de aminoácidos y el desprendimiento de las células infectadas (Parrott y col., 2016).

Asimismo, esta toxina es responsable de la unión a la proteína A del surfactante e ingresar a las células del huésped por endocitosis mediada por clatrina y, una vez dentro, estimula la producción de citocinas proinflamatorias como IL-8, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (Bajantri y col., 2018). Esto ocasiona una reacción inflamatoria aguda que afecta las vías respiratorias (Bajantri y col., 2018); (Surinder, 2018). Los principales mecanismos asociados a la patogenia y algunos factores de virulencia de *M. pneumoniae* se ilustran a continuación en el **cuadro 1**.

**Cuadro 1. Mecanismos patogénicos y factores de virulencia de *Mycoplasma pneumoniae***

<b>Mecanismo patogénico</b>	<b>Factor de virulencia</b>
<b>Adherencia</b>	P1, P30, P40 (proteína C), P90 (proteína B), P200, proteína hipotética de alto peso molecular HMW1-3, P116, P65, factor de elongación termoinestable (EF-Tu), subunidad B del piruvato deshidrogenasa, enolasa de enzimas glucolíticas, TopJ
<b>Evasión inmunitaria</b>	Nucleasa, proteína de unión a inmunoglobulina (IbpM)
<b>Lesión por inflamación</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , especies reactivas de oxígeno (ROS), H <sub>2</sub> S, enzima HapE, oxidasa GlpO, lípidos de membrana, lipoproteínas de membrana, materiales capsulares
<b>Citotoxicidad</b>	Toxina del síndrome de dificultad respiratoria adquirida en la comunidad (CARDS), nucleasa citotóxica
<b>Motilidad deslizante</b>	P65, P30, proteína hipotética MPN387, P24, P41

Adaptado de Jiang y col., (2021)

### 4.6.3. Epidemiología

Es bien sabido que el principal agente etiológico bacteriano causante de neumonía adquirida en la comunidad es *Streptococcus pneumoniae*. Sin embargo, la neumonía es la manifestación clínica más importante de *Mycoplasma pneumoniae*, y puede ocasionar brotes endémicos y epidémicos en niños y adultos dado su pequeño tamaño que le permite propagarse entre una persona y otra con facilidad (Bajantri y col., 2018); (Parrott y col., 2016).

Las neumonías ocasionadas por *Mycoplasma pneumoniae* son endémicas a nivel mundial y tienden a presentarse con mayor frecuencia en verano o principios de otoño, aunque pueden ocurrir en cualquier momento del año (Waites y col., 2017). La mayor parte de los brotes se presentan en ambientes cerrados como bases militares, escuelas, campamentos, comunidades religiosas y hospitales (Merida-Vieyra J y col., 2017).

Esta bacteria es responsable del 40% o más de los casos de neumonías de este tipo y del 18% de los casos pediátricos requieren hospitalización (Bajantri y col., 2018). Sin embargo, la prevalencia varía de acuerdo con la población en estudio y de las técnicas de diagnóstico implementadas (Surinder, 2018). Estudios japoneses reportaron que existe una correlación positiva entre el aumento de temperatura, humedad y la aparición de infecciones causadas por *Mycoplasma pneumoniae* (Bajantri y col., 2018); (Waites y col., 2017). Sin embargo los datos disponibles actualmente se remiten a estudios realizados en Japón, Europa y Estados Unidos (Parrott y col., 2016).

En México la información acerca de la prevalencia de *Mycoplasma pneumoniae* es limitada dada la falta de laboratorios de referencia y personal capacitado, así como carencias en la disponibilidad de métodos moleculares de diagnóstico. A pesar de esto, Merida-Vieyra y col., (2019) detectaron *Mycoplasma pneumoniae* en niños mexicanos con neumonía adquirida en la comunidad mediante serología y PCR en tiempo real. Asimismo, Romero-Espinoza y col., (2018) caracterizó el viroma y bacterioma de niños con neumonía y asma en la Ciudad de México durante invierno entre 2014 y 2015. A pesar de esto es necesario realizar más estudios que permitan establecer una base de datos con información confiable y actualizada acerca de la prevalencia en el número de casos de pacientes afectados por *Mycoplasma pneumoniae* en nuestro país.

#### **4.6.4. Manifestaciones clínicas y extrapulmonares**

La manifestación de la enfermedad ocasionada por *Mycoplasma pneumoniae* es variada (Waites y col., 2017). Sin embargo la manifestación clínica más común es la traquebronquitis que puede ser con tos seca con esputo mucoso o mucopurulento (Waites y col., 2017). En algunos casos, los síntomas no son específicos y se asemejan a los síntomas de una infección viral de vías respiratorias. Sin embargo, múltiples reportes sugieren que la gravedad de los síntomas aumenta con la cantidad de carga bacteriana y ausencia de anticuerpos preexistentes (Bajantri y col., 2018).

Comúnmente, las infecciones por *Mycoplasma pneumoniae* son leves, aunque, se reconoce que puede ocasionar cuadros graves como neumonía fulminante, neumonía necrotizante y síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA) (Merida-Vieyra J y col., 2017).

La variedad de manifestaciones clínicas dependerá de cuáles órganos estén involucrados y el rango de fiebre puede ser de nivel bajo o alto de hasta 39 °C. Además, algunos pacientes presentan mialgias, tos y síntomas gastrointestinales (Bajantri y col., 2018).

Por otro lado, es bien sabido que *Mycoplasma pneumoniae* se caracteriza por ocasionar manifestaciones extrapulmonares en todo el cuerpo (Waites y col., 2017). La infección por esta bacteria se complica con la presencia de manifestaciones extrapulmonares en el 25% de los casos y pueden ocurrir en ausencia de neumonía (Merida-Vieyra J y col., 2017).

Las manifestaciones extrapulmonares no sólo se relacionan con el proceso infeccioso, sino que pueden ser ocasionadas por complicaciones autoinmunes o vasculares (Bajantri y col., 2018). A continuación, se muestran las principales manifestaciones extrapulmonares y los órganos involucrados ocasionadas por *Mycoplasma pneumoniae* en el **cuadro 2**.

**Cuadro 2. Manifestaciones extrapulmonares de *Mycoplasma pneumoniae*.**

Órgano/Sistema	Complicaciones
<b>Piel</b>	Síndrome de Stevens Johnson, mucositis, exantema, eritema, dermatosis subcorneal, vasculitis, liquen plano, necrólisis epidérmica tóxica, eritema multiforme, urticaria, púrpura anafilactoide, entre otras
<b>Neurológicas</b>	Meningoencefalitis, encefalitis/encefalitis diseminada aguda, meningitis aséptica, mielitis transversa, síndrome de Guillain Barré/síndrome de Miller Fisher, neuropatía variante de Guillain Barré, neuropatías craneales/periféricas, cerebelitis/ataxia cerebral aguda, parkinsonismo transitorio, entre otras
<b>Hematológicas</b>	Trombocitopenia, púrpura de Henoch-Schonlein, síndrome hemofagocítico, síndrome de hipoprotrombinemia anticoagulante lúpico, trombosis arterial, rabdomiólisis, infarto esplénico
<b>Cardíacas</b>	Miocarditis, pericarditis, endocarditis, enfermedad trombótica cardíaca/aórtica
<b>Musculoesqueléticas</b>	Artritis, rabdomiólisis
<b>Órganos de los sentidos</b>	<b>Ojo:</b> conjuntivitis, iritis, uveítis. <b>Oído:</b> otitis media, pérdida auditiva súbita
<b>Sistema digestivo</b>	Hepatitis/hepatitis fulminante, pancreatitis
<b>Nefrourinario</b>	Glomerulonefritis, nefropatía por IgA, embolismo de arteria renal, priapismo
<b>Misceláneas</b>	Enfermedad de Kawasaki, mononucleosis infecciosa

Tomado de Merida-Vieyra J y col., (2017)

#### 4.6.5. Diagnóstico

La Sociedad Respiratoria Japonesa (JRS) estableció un sistema de puntuación que permite diferenciar entre una neumonía típica y una atípica. Los criterios de diferenciación incluyen: (1) que el paciente sea menor de 60 años; (2) ninguna o enfermedades subyacentes menores; (3) tos persistente; (4) auscultación torácica ineficiente; (5) ausencia de esputo o agente etiológico identificado mediante tinción Gram; y (6) niveles de glóbulos blancos periféricos inferiores a 10,000/ $\mu$ L (Parrott y col., 2016).

La detección de *Mycoplasma pneumoniae* se puede lograr mediante cultivo, serología o técnicas moleculares. Sin embargo, son pocos los laboratorios que ofrecen este servicio dado que el crecimiento en cultivo de esta bacteria es lento y de requerimientos nutricionales exigentes, las pruebas serológicas requieren sueros de fase aguda y convaleciente recolectados de al menos 2 semanas de diferencia, y las pruebas de detección molecular son caras y no todos los laboratorios tienen acceso a ellas (Waites y col., 2017).

Debido a la ausencia de pared celular, no es posible teñir mediante tinción Gram a *Mycoplasma pneumoniae*. Sin embargo, los medios de cultivo siguen siendo considerados como el estándar de oro en el diagnóstico de esta bacteria a pesar de que son nutricionalmente exigentes (generalmente se utiliza agar SP4) y su crecimiento puede tardar de 3 a 6 semanas aproximadamente (Bajantri y col., 2018); (Merida-Vieyra y col., 2019); (Waites y col., 2017).

El diagnóstico serológico incluye crioaglutininas, fijación de complemento y ensayos inmunoenzimáticos (Merida-Vieyra J y col., 2017). Además, la detección de

IgM o IgA en combinación con PCR aporta resultados óptimos en el diagnóstico de infecciones causadas por *Mycoplasma pneumoniae* (Surinder, 2018). Cabe destacar que el estándar de oro para el diagnóstico serológico es un cambio de 4 veces en los títulos de anticuerpos con el tiempo, ya que la sensibilidad de los ensayos de IgM aumenta con la duración de los síntomas (IgM aumenta antes que IgG), aproximadamente 70% después de 16 días de síntomas (Bajantri y col., 2018).

Por otro lado, el primer reporte de un ensayo de PCR para identificar *Mycoplasma pneumoniae* a partir de muestras clínicas fue publicado a finales de 1980 y desde ese momento, se han implementado múltiples y variados métodos de detección molecular orientados al gen 16S rRNA, operón de la ATPasa y los genes P1 tuf, parE, dnaK, pdhA, repMp1 y CARDS (Merida-Vieyra J y col., 2017); (Waites y col., 2017).

Además de la PCR, existen otras técnicas de amplificación molecular alternativas, como la amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos (NASBA), amplificación de Q $\beta$  replicasa, amplificación por desplazamiento de cadena, amplificación mediada por transcripción, reacción en cadena de ligasa y PCR multiplex (Surinder, 2018). Sin embargo, la PCR convencional ha sido reemplazada por PCR en tiempo real dado su tiempo de respuesta más rápido, menor probabilidad de contaminación, mayor sensibilidad y especificidad, así como la facilidad de proporcionar otros datos cuantitativos tales como la detección de genes de resistencia a los antimicrobianos y establecer relaciones filogenéticas entre organismos (Waites y col., 2017). También, existen otras técnicas modernas que carecen de validez dado su poco uso en la actualidad, pero pueden ser implementadas, como la espectroscopia Raman mejorada en la superficie de matriz de Nanorod (NA-SERS) y la espectrometría

de masas de tiempo de vuelo de ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS) (Bajantri y col., 2018).

Por otro lado la Administración de Alimentos y Medicamentos aprobó 2 técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de *Mycoplasma pneumoniae* en los Estados Unidos y fueron los ensayos de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) comercializados como *illumigen Mycoplasma Direct* y el panel respiratorio FilmArray (Waites y col., 2017).

Actualmente, las técnicas moleculares son una herramienta diagnóstica eficaz dada su elevada sensibilidad que va del 85-100%, especificidad del 98-100%, y menor tiempo de respuesta. Además, la PCR se ha establecido como el principal método de diagnóstico molecular para la infección ocasionada por *Mycoplasma pneumoniae* (Merida-Vieyra y col., 2019).

#### **4.6.6. Tratamiento**

Históricamente, los principales fármacos utilizados en infecciones por *Mycoplasma pneumoniae* son los dirigidos al ribosoma bacteriano para inhibir la síntesis de proteínas (Waites y col., 2017). Por ello, el tratamiento recomendado para infecciones por *Mycoplasma pneumoniae* son antibióticos macrólidos, cetólidos, tetraciclinas y fluoroquinolonas; cabe resaltar que en adultos se recomienda el uso de macrólidos, tetraciclinas y fluoroquinolonas, mientras que en niños únicamente el uso de macrólidos (Merida-Vieyra J y col., 2017).

Antes del año 2000, la resistencia a los antimicrobianos en esta bacteria no era un tema de importancia. Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos es un tema relevante actualmente ya que se han reportado casos de *Mycoplasma pneumoniae*

resistente a los macrólidos (MRMP) en Europa y Norteamérica debido a mutaciones puntuales en el dominio V del gen 23S rRNA (Surinder, 2018). Además, la ausencia de pared celular en esta bacteria es otro factor de resistencia a los antimicrobianos de tipo betalactámico, glucopéptidos y fosfomicina, lo que deja pocas alternativas para el tratamiento de este tipo de infecciones (Waites y col., 2017).

La azitromicina es el macrólido de elección, con mejor tolerancia y una vida media más larga que los demás, esto permite un tratamiento más corto. Además, Bajantri y col., (2018) recomienda que todas las manifestaciones extrapulmonares deben tratarse con antibióticos, ya que no es posible descartar la invasión directa de *Mycoplasma pneumoniae* y la disminución de la carga bacteriana general puede debilitar el sistema inmunitario del huésped. También, se recomienda utilizar minociclina, doxiciclina, tigeciclina o fluoroquinolonas para el tratamiento exitoso de *Mycoplasma pneumoniae* resistente a los macrólidos (MRMP) (Surinder, 2018).

## V. JUSTIFICACIÓN

La neumonía adquirida en la comunidad es un problema presente a nivel mundial que ocasiona pérdidas humanas, y puede ser ocasionada por diversos virus, bacterias y en algunos casos por hongos, afectando a personas sin antecedentes médicos recientes.

En México las infecciones de vías respiratorias son la primera causa de morbilidad. sin embargo, la incidencia real de las NAC se desconoce, aunque se calcula que es de 2 a 4 casos por cada 1000 habitantes. Aunado a esto, la pandemia ocasionada por SARS-CoV-2 ha ocasionado pérdidas a nivel mundial, siendo México uno de los países mayormente afectados por la misma. Asimismo, las coinfecciones bacterianas en pacientes positivos a SARS-CoV-2 aumentan el nivel de morbilidad y mortalidad de los pacientes, en donde las bacterias que comúnmente se encuentran en coinfección son *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* y/o *Haemophilus influenzae* entre otras.

Dada la situación anteriormente descrita y hasta donde sabemos, no existen reportes de coinfección de estas bacterias y SARS-CoV-2 en Sinaloa, México. Por ello, el objetivo de esta investigación es establecer la frecuencia de coinfección de este virus con *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* en muestras de hisopado nasofaríngeo.

## VI. HIPÓTESIS

Los pacientes positivos a SARS-CoV-2 presentan coinfecciones bacterianas con *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* y/o *Haemophilus influenzae*

## VII.OBJETIVOS

### 7.1. Objetivo general

Analizar la frecuencia de coinfección de SARS-CoV-2 con *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* y/o *Haemophilus influenzae* en muestras de hisopado nasofaríngeo

### 7.2. Objetivos específicos

7.1.2 Analizar la frecuencia de la infección de SARS-CoV-2 en población sinaloense

7.2.2 Analizar la frecuencia de coinfección por SARS-CoV-2 con *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* y/o *Haemophilus influenzae*

7.2.3 Identificar la sintomatología característica de los pacientes con coinfecciones bacterianas ocasionadas por *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* y/o *Haemophilus influenzae*

## **VIII. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **8.1. Tipo de estudio**

Retrospectivo, observacional, transversal, descriptivo con una  $n$  a conveniencia realizado en el Laboratorio de Microscopía de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas

### **8.2. Periodo de muestra**

Enero de 2021 a diciembre de 2021

### **8.3. Criterios de inclusión**

- Muestras de hisopado nasofaríngeo de pacientes que acudieron a realizarse la prueba de SARS-CoV-2 al laboratorio Delia Barraza
- Pacientes que aceptaron participar mediante la firma de CI

### **8.4. Criterios de exclusión**

- Pacientes que no aceptaron y por lo tanto no firmaron el CI

### **8.5. Criterios de eliminación**

- Muestras que no cumplieron con el control de calidad interno del DNA

### **8.6. Materiales**

Las muestras por analizar corresponden a hisopados nasofaríngeos contenidos en Buffer TE, estas fueron obtenidas de pacientes que acudieron a la toma de muestra del laboratorio Delia Barraza, del Estado de Sinaloa.

## **8.7. Métodos**

### **8.7.1. Extracción de DNA**

La extracción del DNA se llevó a cabo a partir de las muestras de hisopado nasofaríngeo utilizando el kit de extracción de extracción de Jena Bioscience ® siguiendo las instrucciones del fabricante.

### **8.7.2. Análisis de control de calidad del DNA**

Para analizar la calidad e integridad del DNA de las muestras previamente extraídas, se realizó una amplificación del gen beta globina mediante reacción en cadena de la polimerasa siguiendo las condiciones establecidas durante el estudio realizada por Qmichou y col., 2013 Posterior a la amplificación, se visualizó la presencia del gen de 268pb mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% utilizando un transluminador de luz UV.

### **8.7.3. PCR multiplex**

Una vez realizado y confirmado la buena calidad e integridad del DNA de cada una de las muestras extraídas, se realizó una amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El objetivo de esta fue amplificar los siguientes genes: regiones del gen 16S RNA (*primers* Myc1 y Myc2) de *Mycoplasma pneumoniae*; el gen ompA (*primers* CP1 y CP2) que codifica la proteína mayor de membrana de *Chlamydia pneumoniae*, descritos por Guillén Rosa y col., (2012); el gen omp2 de *Haemophilus influenzae* descrito por Parra y col., (2007) y por último el gen lytA de la especie bacteriana *Streptococcus pneumoniae* descrito por Strálin y col., (2006).

En cada una de las reacciones de amplificación se incluyeron controles negativos y positivos para validar la reacción, siguiendo las condiciones establecidas por cada uno de los autores en sus estudios. Los fragmentos esperados fueron de 438 pb, 368 pb, 538 pb y 229 pb respectivamente.

#### **8.7.4. Electroforesis en gel de agarosa**

Posterior a la amplificación mediante PCR multiplex se realizó la electroforesis por 50-55 minutos en gel de agarosa al 2% utilizando gel red para la tinción del DNA y se adicionó buffer TAE. Asimismo, se adicionaron 5-10 µl del producto de PCR y también un marcador de pares de bases para, posteriormente, ser visualizadas las bandas obtenidas correspondientes a los genes amplificados durante la reacción.

#### **8.7.5. Análisis estadístico**

Se llevó a cabo un análisis estadístico descriptivo de la sintomatología de los pacientes analizados durante la presente investigación. Se tomaron en cuenta cada uno de los síntomas que presentaron los pacientes al momento de la toma de muestra para así contabilizar la predominancia de cada uno de ellos y su relación con la gravedad de la enfermedad. Los síntomas incluyeron gripa, fiebre, dolor de garganta, malestar general, rinorrea, cefalea, dolor articular e incluso pacientes que acudieron sin la presencia de algún síntoma.

## IX. RESULTADOS

### 9.1. Extracción del DNA

Un total de 104 muestras de pacientes SARS-CoV-2 (+) fueron obtenidas a partir de hisopado nasofaríngeo del Laboratorio Delia Barraza y a cada una de ellas se les realizó exitosamente la extracción utilizando el kit de extracción anteriormente descrito.

68 muestras SARS-CoV-2 (+) correspondían a mujeres, que corresponde al 65% del total, mientras que 36 fueron hombres, representando el 35% del total, como se aprecia en la **figura 1**.

Por otro lado, 108 muestras SARS-CoV-2 (-) fueron sometidas a extracción de DNA con el objetivo de ser analizadas bajo los mismos protocolos que las muestras SARS-CoV-2 (+). 47 muestras correspondían a hombres mientras que 61 a mujeres, que representan el 43.5% y 56.5% respectivamente.

Es importante mencionar que las edades para ambos grupos de pacientes fueron agrupadas de la siguiente manera: menores de 5 años, infancia de 6-11 años, adolescencia de 12-17 años, juventud de 18-26 años, adultez de 27-59 años y vejez de 60 años en adelante, esto basado en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud. Esto permitió agrupar y visualizar de mejor manera las edades de los pacientes para identificar en donde se ubicaba la mayor frecuencia de pacientes afectados y no afectados por este virus.

### 9.2. Análisis de control de calidad del DNA

Todas las muestras cumplieron con el control de calidad interno establecido por el laboratorio al visualizar la banda del gen beta globina de 268 pb por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2% (**Figura 2**). Es importante destacar que todas

las muestras que no cumplieron con los estándares de calidad establecidos fueron descartadas de inmediato.

### 9.3. PCR multiplex

Posterior al análisis de calidad e integridad del DNA de cada una de las muestras, se realizó una PCR multiplex con el objetivo de identificar la presencia de *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Mycoplasma pneumoniae* y confirmar o descartar coinfección bacteriana en los pacientes SARS-CoV-2 (+) utilizando la metodología y condiciones de amplificación implementada por Strálin y col., en el año 2006.

Cabe puntualizar que la edad promedio de los pacientes fue de 52 años y tal como podemos apreciar en la **figura 3**, la mayor cantidad de pacientes positivos se encontró en el rango de los 27-59 años que corresponde a la adultez y en la vejez (60 años en adelante) con 46 pacientes positivos en cada uno. Es importante destacar también que en los otros rangos de edad también se encontraron pacientes positivos a SARS-CoV-2, aunque en menor medida. Por ejemplo en menores de 5 años hubo 2 positivos, en infantes de 6-11 años sólo 3, mientras que en adolescentes hubo 4 y por último 3 en jóvenes de 18-26 años.

Como resultado de la amplificación de la PCR multiplex sólo 13 (12.5%) muestras de las 104 SARS-CoV-2 (+) presentaron positividad a coinfección bacteriana, específicamente a la bacteria *Streptococcus pneumoniae*. De esos 13 pacientes SARS-CoV-2 (+) que presentaron coinfección bacteriana 9 eran mujeres y 4 hombres (**Figura 4**).

Para confirmar la presencia de coinfección bacteriana ocasionada por alguna de las bacterias mencionadas anteriormente, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2% para visualizar las bandas que confirman la presencia del gen. Específicamente, fue posible visualizar la banda de 229 pb correspondiente al gen *lytA* de la bacteria *Streptococcus pneumoniae* (**Figura 5**). La electroforesis se realizó a 110 V por 50-55 minutos aproximadamente, esto favoreció la correcta separación del material genético y posterior visualización al transluminador con luz ultravioleta.

Por otro lado, también fueron sometidas para el mismo análisis las muestras correspondientes a pacientes SARS-CoV-2 (-) con el objetivo de confirmar la presencia o ausencia de alguna bacteria causante de coinfección. Sin embargo, ninguna de ellas fue positiva para cualquier bacteria de las involucradas en nuestro estudio, descartando por completo la presencia de coinfección bacteriana.

#### **9.4. Análisis estadístico**

Dentro de los principales síntomas que presentaron ambos grupos de pacientes se encuentran fiebre, dolor de garganta, gripa, tos, cefalea, rinitis, rinorrea, letargo, flemas, malestar general, dificultad respiratoria, sudoración, dolor de ojos, vómito, febrícula, entre otros. Asimismo, hubo algunos pacientes en ambos grupos de estudio que no presentaron ningún tipo de síntoma. También, es importante mencionar que un paciente SARS-CoV-2 positivo necesitó oxígeno durante el tratamiento.

La sintomatología predominante en los hombres SARS-CoV-2 (+) fue dolor de garganta y tos con 22.22%; el 33.33% no presentó sintomatología alguna (**Figura 6**). A su vez, las mujeres de este mismo grupo de estudio manifestaron fiebre y dolor de

garganta en su mayoría con 22.53% para ambos síntomas y el 35.29% del total no presentó ningún tipo de síntoma durante el estudio (**Figura 7**).

Por otro lado, del grupo de los pacientes SARS-CoV-2 (-), el síntoma predominante en hombres fue cefalea con el 8.51%, y el 74.47% de ellos no presentó ningún síntoma (**Figura 8**). En cambio, en las mujeres predominó la gripa (11.48%), pero el 63.93% de ellas no presentó sintomatología alguna, aunque también estuvieron presentes otros síntomas como cefalea, dolor articular y tos, aunque en menor proporción (**Figura 9**).

## Pacientes Positivos a SARS-CoV-2

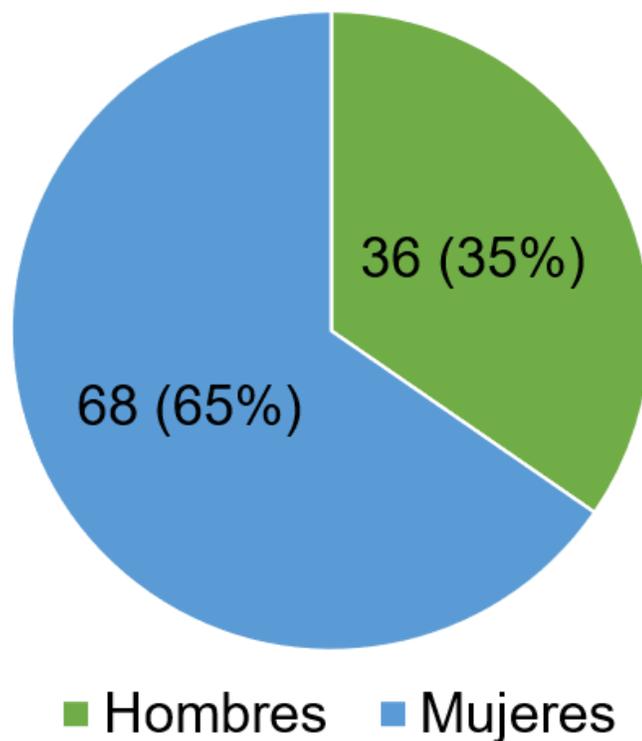
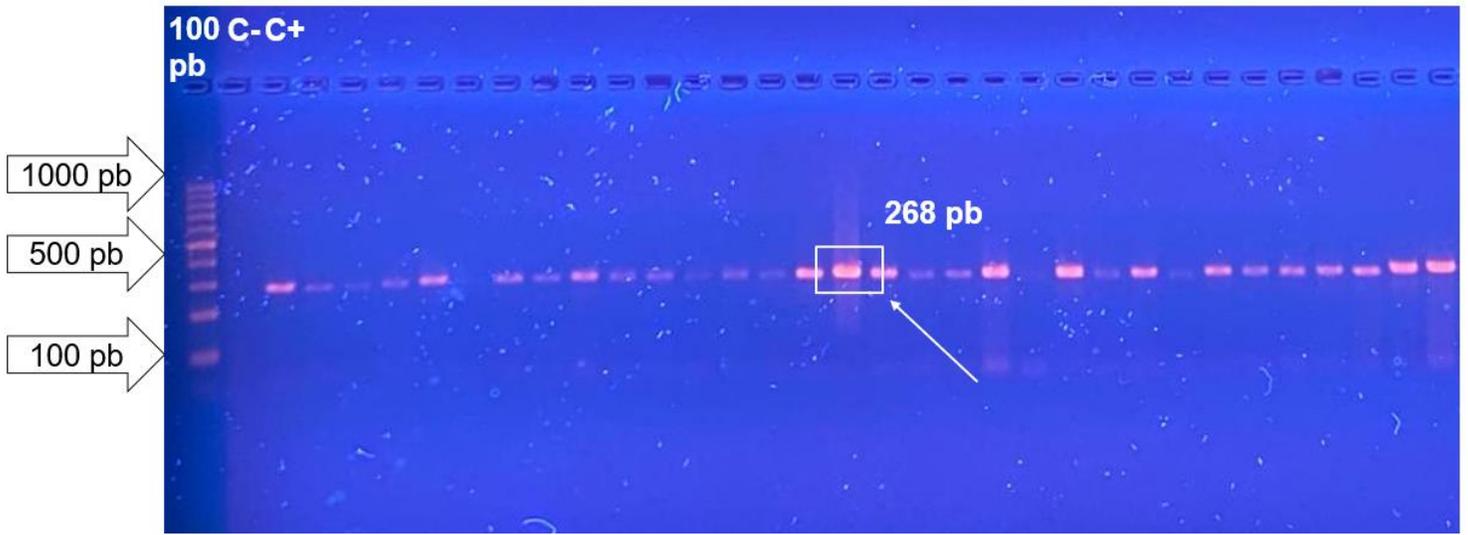
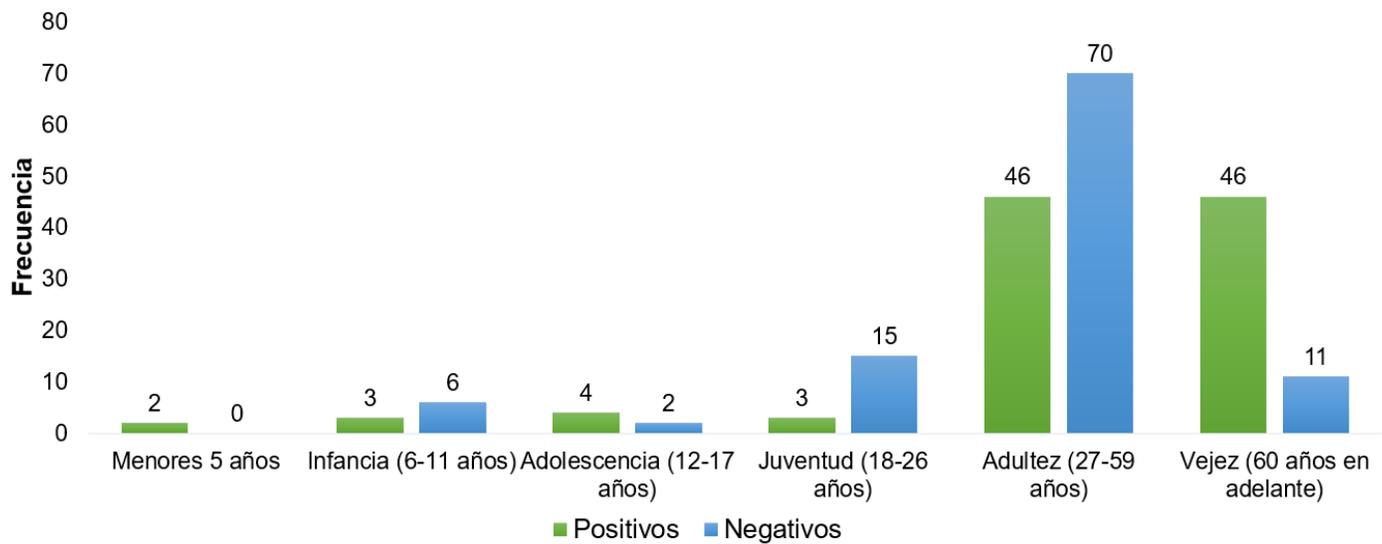


Figura 1. Cantidad de hombres y mujeres positivos a SARS-CoV-2



**Figura 2. Gel de agarosa al 2% en donde se muestra la presencia del gen beta globina de 268 pb que confirma la calidad e integridad del DNA de las muestras**

## Edades de los pacientes



**Figura 3. Tabla de frecuencias de las edades de los pacientes involucrados en el estudio**

## Bacterias causantes de coinfecciones en pacientes SARS-CoV-2 positivos

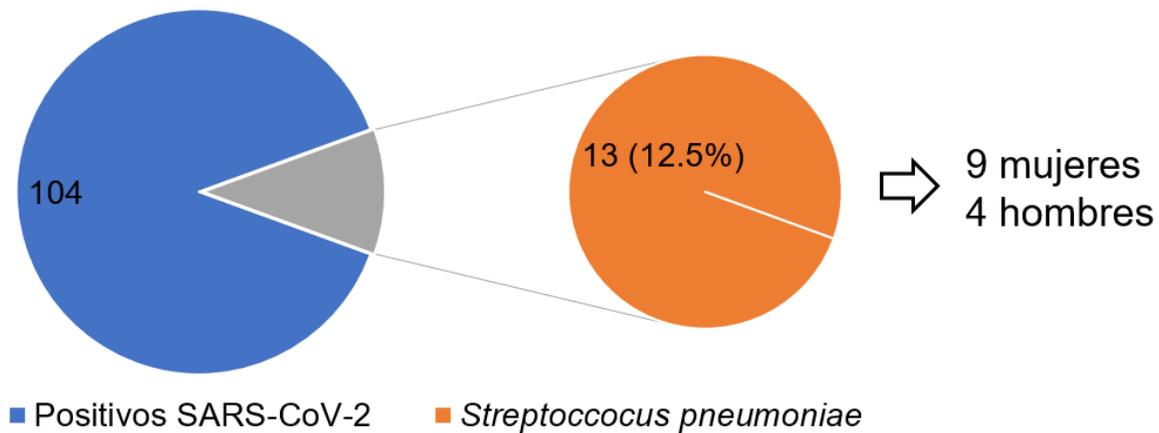
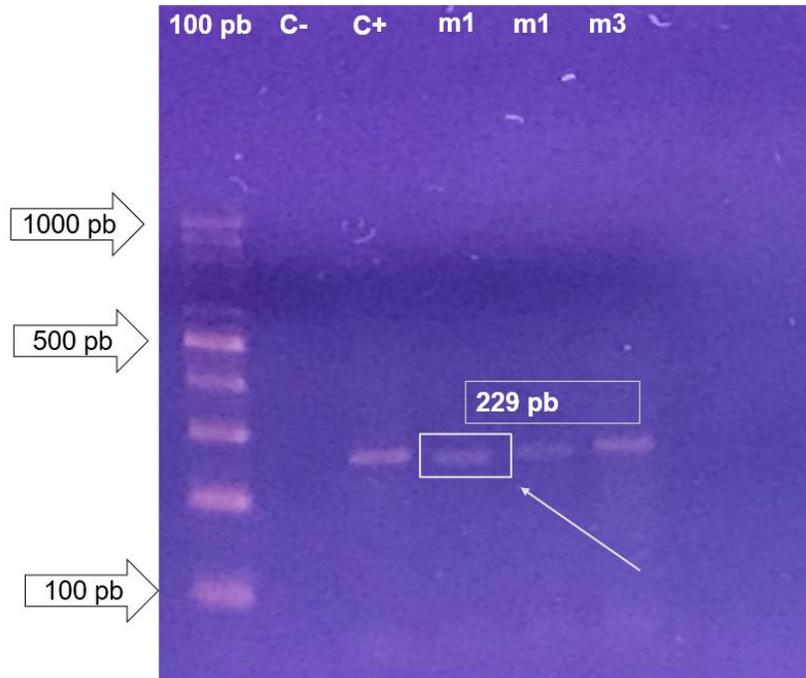


Figura 4. Gráfico correspondiente a la cantidad de pacientes positivos a SARS-CoV-2 con coinfección ocasionada por la bacteria *Streptococcus pneumoniae*



**Figura 5. Gel de agarosa al 2% en donde se muestra la presencia del gen *lyt A* de 229 pb que confirma la presencia de coinfección ocasionada por la bacteria *Streptococcus pneumoniae***

Sintomatología Hombres SARS-CoV-2 (+)

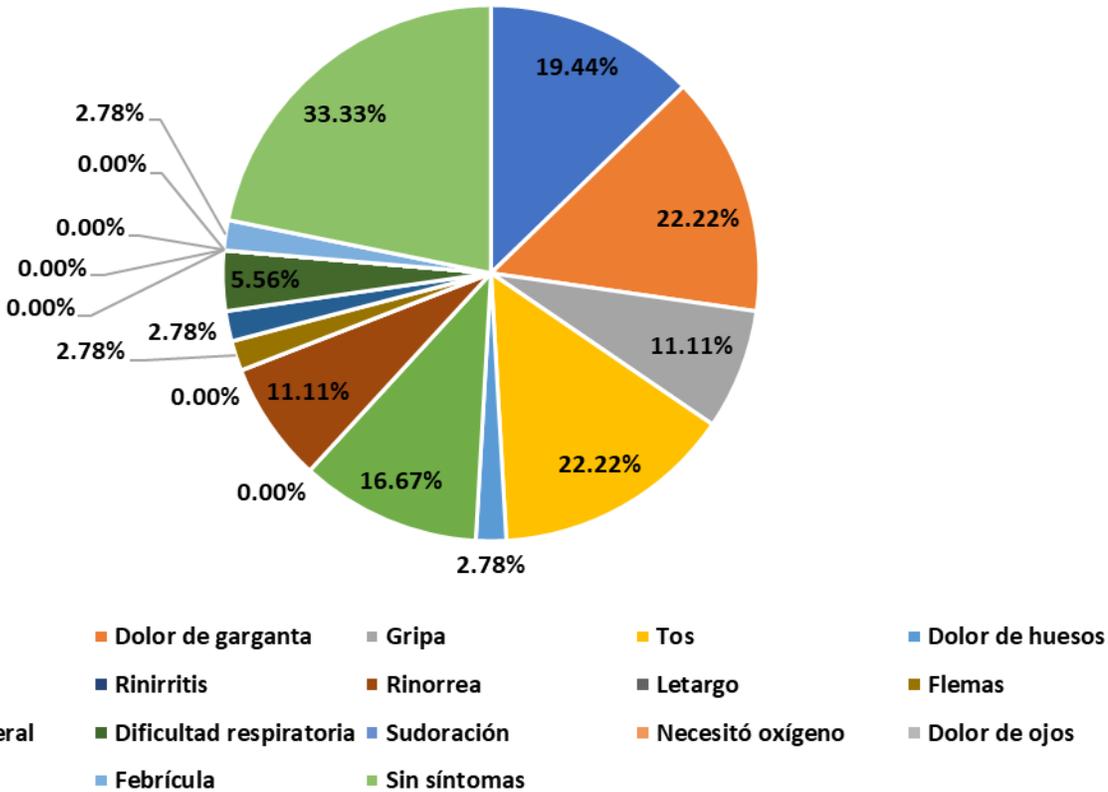


Figura 6. Sintomatología hombres SARS-CoV-2 (+)

Sintomatología Mujeres SARS-CoV-2 (+)

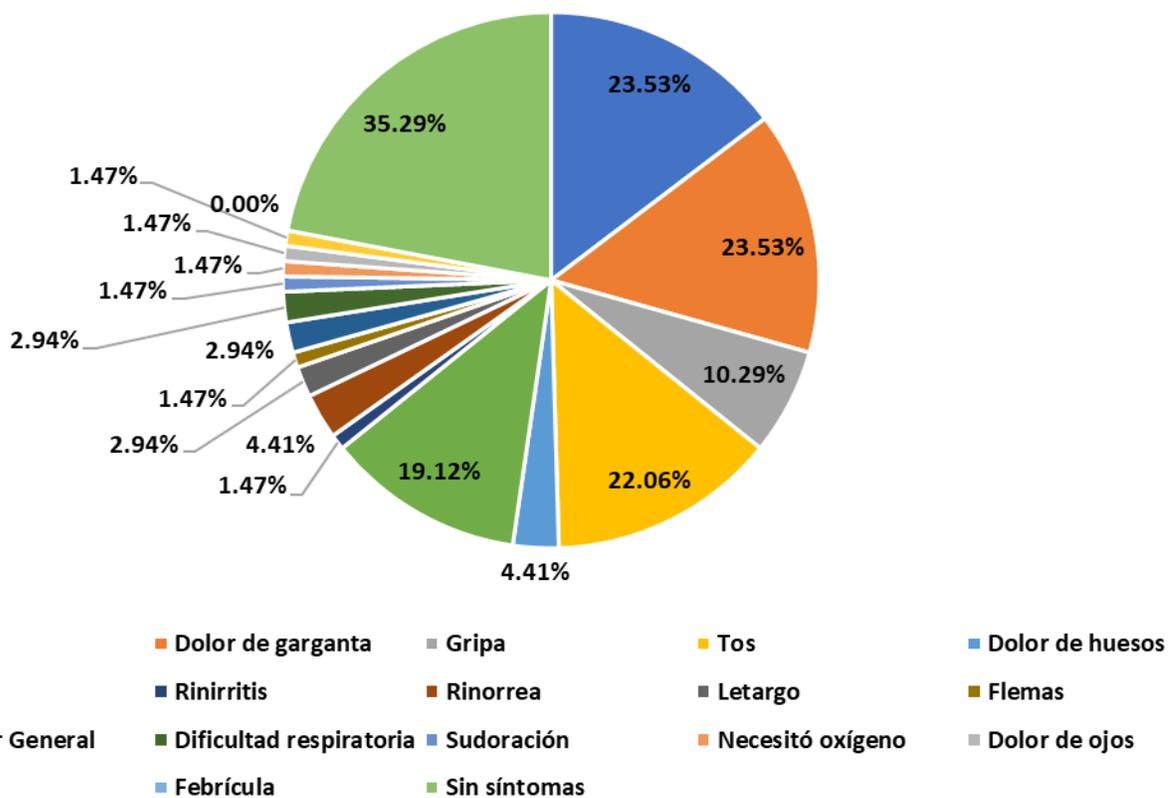
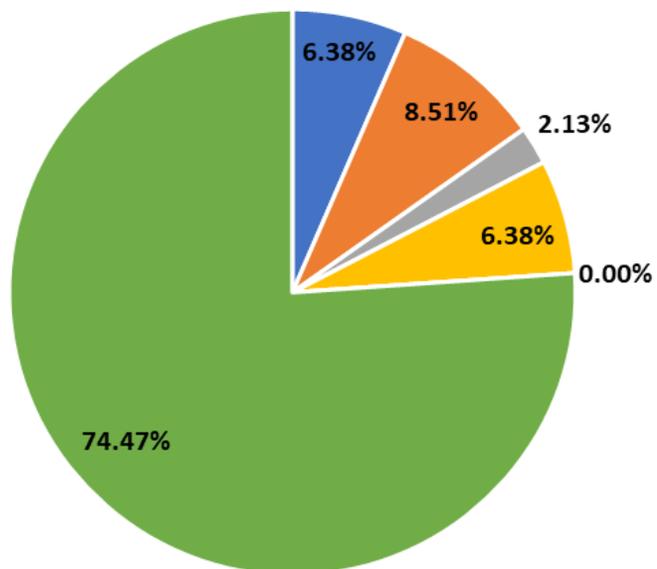


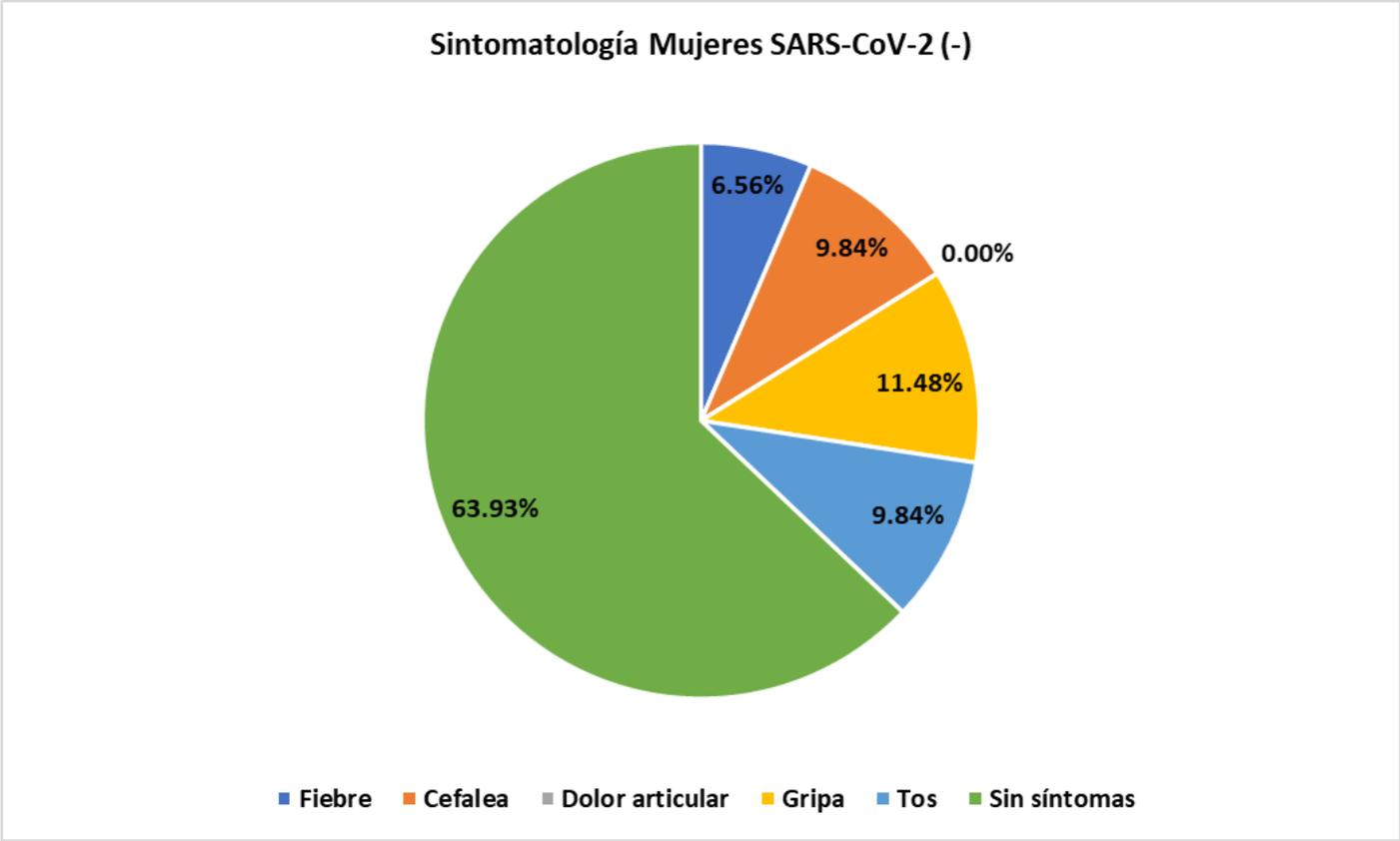
Figura 7. Sintomatología mujeres SARS-CoV-2 (+)

Sintomatología Hombres SARS-CoV-2 (-)



■ Fiebre ■ Cefalea ■ Dolor articular ■ Gripe ■ Tos ■ Sin síntomas

Figura 8. Sintomatología Hombres SARS-CoV-2 (-)



**Figura 9. Sintomatología Mujeres SARS-CoV-2 (-)**

## X. DISCUSIÓN

Desde que fue reportado el primer caso a finales de 2019 en Wuhan, China, el SARS-CoV-2 se caracterizó por su gran transmisibilidad y potencial infeccioso al ser humano, siendo este el séptimo coronavirus identificado en los últimos 20 años (Holmes y col., 2021); (Hu y col., 2020).

Con el paso del tiempo, se fueron respondiendo las principales incógnitas acerca de este nuevo virus ya que al inicio se desconocían las causas y el agente causal de los pacientes que padecían una enfermedad similar a neumonía (Kadam y col., 2021). A pesar del trabajo de los expertos en todo el mundo, el virus continuó propagándose de manera alarmante, por lo que la Organización Mundial de la Salud declaró de manera oficial pandemia en enero de 2020 (Hu y col., 2020).

En el mundo, se ha visto que las coinfecciones bacterianas pueden manifestarse en pacientes SARS-CoV-2 (+) y aunque al inicio solían pasarse desapercibidas por el personal de la salud, es bien sabido que estas pueden agravar la enfermedad de quienes las padecen (Oliva y col., 2020). Además, Lai y col., establecieron en el año 2020 que el SARS-CoV-2 poseía la capacidad de establecer coinfecciones con microorganismos (virus, bacterias y hongos). A pesar de esto, son pocos los estudios que se han realizado para establecer la frecuencia y los agentes causales de las coinfecciones bacterianas.

En esta investigación se intentó estudiar y esclarecer la frecuencia de coinfección de SARS-CoV-2 con algunas bacterias causantes de neumonías adquiridas en la comunidad con el objetivo de establecer si la presencia de coinfección aumentaba la gravedad en la sintomatología de la enfermedad para cada paciente haciendo uso de PCR multiplex y análisis estadístico descriptivo para analizar la sintomatología de cada paciente al momento de la toma de muestra.

Westblade y col., en el año 2021 hicieron una revisión sistemática con el objetivo de evaluar las coinfecciones bacterianas al momento del ingreso hospitalario de pacientes SARS-CoV-2 (+) y reportaron que menos del 4% de los pacientes hospitalizados con covid-19 presentaban coinfección bacteriana. La mayoría de los pacientes involucrados en estos estudios recibieron terapia antibacteriana. Sin

embargo, los autores enfatizan la disparidad entre la cantidad de pacientes hospitalizados que fueron tratados con antibióticos y la cantidad de pacientes que verdaderamente tienen coinfección bacteriana, resaltando la administración innecesaria de antibacterianos en pacientes con covid-19.

El uso desconsiderado e innecesario de antibióticos fue un problema que se presentó al inicio de la pandemia en muchas partes del mundo y México no quedó exento de ello. Westblade y col., 2021 sugieren que esto se debió a la incertidumbre que una nueva enfermedad infecciosa conlleva, al aumento en el número de pacientes en estado crítico y la falta de tratamientos para el SARS-CoV-2. También es importante mencionar que conforme se fue obteniendo mayor conocimiento de este virus la manera de abordarlo fue mejorando.

Los pacientes que participaron en nuestra investigación fueron hombres y mujeres de diferentes rangos de edad que van de menores de 5 años hasta mayores de 60 años. Es importante contar con múltiples rangos de edad para así evaluar la sintomatología característica de acuerdo con el rango de edad de cada paciente.

El 65% de nuestros pacientes eran mujeres mientras que el 35% eran hombres. En el estudio realizado por Hughes y col., en 2020, el 62% de los pacientes eran hombres mientras que el 38% fueron mujeres. Por otro lado, el 78.2% de los pacientes fueron hombres en el estudio elaborado por Elabbadi y col., en 2021.

El rango promedio de edad SARS-CoV-2 (+) de nuestro estudio fue de 52 años. En su investigación en el año 2020, Hughes y col., reportaron una edad promedio de 69.5 años. Comparado con nuestros datos, hay una diferencia considerable de casi 20 años entre cada uno de los grupos de estudio. Por otro lado, el promedio de edad reportado por Hedberg y col., en 2022 fue de 62 años, reportando un rango entre los 52 y 73 años. En este caso la diferencia de edad fue de 10 años. Es necesario mencionar que la mayor cantidad de pacientes SARS-CoV-2 (+) en nuestra investigación se ubicaron entre la adultez (27-59 años) y la vejez (60 años en adelante). Estos rangos de edad fueron establecidos de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud.

El rango de edad es importante ya que, en nuestro país, particularmente en Sinaloa, muchas de las principales actividades económicas no pararon. Específicamente, los empleos del área privada fueron los que continuaron las actividades, aunque reforzaron las medidas con el objetivo de disminuir la propagación entre los trabajadores. Sin embargo, esto permitió que los principales infectados por este virus fueran personas en edad laboral, es decir de los 18-20 años en adelante. Esto es un dato que confirmamos con nuestra investigación, ya que los principales pacientes infectados pertenecían a la juventud (18 años en adelante). Uno de los factores involucrados en este comportamiento de la población, fue la necesidad de continuar trabajando para llevar el sustento a casa, ya que si dejaban de asistir al trabajo podían perder el empleo, algo impensable e insostenible para muchos.

Particularmente, los adultos mayores (60 años en adelante) involucrados en nuestra investigación presentaron una frecuencia elevada. En nuestro país hubo quienes no hicieron caso a la solicitud de las autoridades de quedarse en casa, principalmente para evitar el contagio a personas vulnerables, entre ellos los adultos mayores. Específicamente, fue muy común la visita domiciliaria a este tipo de personas y las consecuencias fueron el aumento considerable en adultos mayores infectados, incluso aquellos que murieron a causa del virus.

Para diagnosticar la infección por SARS-CoV-2 se utiliza RT-qPCR a nivel mundial, incluso en México, tal como lo confirmó Martínez-Liu y col., en 2021 es el estándar de oro en el diagnóstico de este. Aunado a esto, las coinfecciones bacterianas son un problema importante que puede agravar la sintomatología de los pacientes SARS-CoV-2 (+). Por ello, es necesario la existencia de métodos moleculares capaces de detectarlas, buscando la atención temprana y evitar la gravedad de la sintomatología de los pacientes infectados que pudiera condicionarlos a la muerte.

La prueba molecular utilizada en este estudio fue una PCR multiplex que permite identificar hasta 4 patógenos (*Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*) causantes de neumonía capaces de ocasionar coinfección bacteriana en pacientes SARS-CoV-2 (+). Esta prueba ha

sido utilizada en múltiples ocasiones con el objetivo de identificar más de un patógeno respiratorio a la vez.

En nuestro caso, fue posible identificar en 13 pacientes SARS-CoV-2 (+) la presencia de coinfección bacteriana ocasionada por la bacteria *Streptococcus pneumoniae*. Ningún otro de los pacientes presentó coinfección bacteriana ocasionada por esta bacteria o por alguna otra de las involucradas en nuestro estudio. De estos 13 pacientes 9 eran mujeres y 4 hombres.

Nuestros hallazgos confirman el hecho de que esta bacteria es una de las agentes causales de neumonías adquiridas en la comunidad y coinfecciones bacterianas en este tipo de pacientes. En 2023, Bordi y col., detectaron *Mycoplasma pneumoniae* causante de coinfección en 5 pacientes (4.0%), mientras que 1 de sus pacientes (0.8%) padecía coinfección ocasionada con *Streptococcus pneumoniae* durante su estudio. Los porcentajes de su estudio son distintos comparados con los nuestros, en nuestro caso, 13 pacientes en coinfección ocasionada por esta última bacteria representaron el 12.5% de nuestros pacientes estudiados. Esto resalta y confirma la capacidad que tiene esta bacteria de ocasionar coinfecciones en este tipo de pacientes.

Por otro lado, en 2019 Lee y col., utilizaron PCR multiplex para identificar hasta 35 patógenos respiratorios. En su estudio reportaron la identificación de *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus influenzae*, entre otros. Incluso, reportaron un 42.3% de coinfección en sus muestras. Estos datos fortalecen la importancia de esta prueba molecular en diagnósticos de este tipo, al mismo tiempo que fundamenta y solidifica su utilización en nuestro estudio.

Los síntomas característicos de los pacientes infectados con SARS-CoV-2 incluyen tos seca, fiebre y dificultad respiratoria, así como dolor de garganta, cansancio, cefalea, mialgia, y en casos más severos infección pulmonar y disfunción multiorgánica Seyed Hosseini y col., 2019. También, en algunos casos se ha reportado la capacidad que tiene este virus de ocasionar problemas a nivel neurológico, como alteración de la conciencia, accidentes cerebrovasculares isquémicos y musculares, así como daño muscular, según lo reportado por Mohamadian y col., 2020.

Struyf y col., realizaron un análisis que involucró 16 estudios con el objetivo de identificar la precisión diagnóstica de signos y síntomas característicos de pacientes SARS-CoV-2 (+) en 2020. En este estudio encontraron que los principales síntomas asociados a la infección ocasionada por este virus son tos, dolor de garganta, fiebre, mialgia, artralgia, fatiga y cefalea (Struyf y col., 2020). Los pacientes de nuestro estudio también padecieron algunos de estos síntomas con los datos mencionados anteriormente.

Hasta donde sabemos, nuestro estudio es el primero en nuestro estado que analiza coinfecciones bacterianas en pacientes SARS-CoV-2 (+) y (-). Esto ha permitido dar un paso hacia adelante con el objetivo de continuar dilucidando los factores que permiten el establecimiento de coinfecciones en pacientes de este tipo. Aún quedan muchas incógnitas por responder, pero nuestro estudio sirve como punto de partida para investigaciones relacionadas con objetivos similares acerca de la agresividad de la infección por este virus que eventualmente puede conducir a la muerte de los pacientes.

## XI. CONCLUSIONES

Las infecciones ocasionadas por SARS-CoV-2 ocasionan una sintomatología característica en la que destaca la presencia de fiebre, tos, dolor de garganta, gripa, mialgia, artralgia, disnea, entre otros.

Cuando hay presencia de coinfecciones bacterianas la sintomatología puede agravarse como lo mencionan algunos autores. En este sentido, en nuestro estudio la bacteria causante de coinfecciones bacterianas en pacientes infectados por este virus fue la especie *Streptococcus pneumoniae* que coincide con lo reportado por varios autores como una de las principales especies involucradas en coinfecciones, y estuvo presente en 13 de nuestros pacientes, 9 mujeres y 4 hombres.

La PCR multiplex es una prueba molecular útil en diagnósticos de este tipo de bacterias y con los datos de nuestro estudio se recomienda la utilización de PCR múltiple en futuros estudios de este tipo ya que, con ella es posible la identificación de diversas bacterias relacionadas con dificultad respiratoria en pacientes con covid-19.

## **XII.PERSPECTIVAS DEL PROYECTO**

1. Realizar un análisis de correlación que permita asociar si la presencia de coinfecciones bacterianas en pacientes SARS-CoV-2 aumenta la gravedad de los síntomas y por ende la gravedad de la enfermedad.
2. Amplificar más genes de otras especies causantes de neumonía con el objetivo de identificar si hay más especies además de las ya reportadas con la capacidad de establecer coinfecciones bacterianas en pacientes de este tipo.

### XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Aliberti, S., de la Cruz, C. S., Amati, F., Sotgiu, G., & Restrepo, M. I. (2021). Seminar Community-acquired pneumonia. In *www.thelancet.com* (Vol. 398). [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com)
2. Awadasseid, A., Wu, Y., Tanaka, Y., & Zhang, W. (2021). Current advances in the development of SARS-CoV-2 vaccines. *International Journal of Biological Sciences*, 2021(1), 8–19. <https://doi.org/10.7150/ijbs.52569>
3. Bajantri, B., Venkatram, S., & Diaz-Fuentes, G. (2018). Mycoplasma pneumoniae: A Potentially Severe Infection. *J Clin Med Res*, 10(7), 535–544. <https://doi.org/10.14740/jocmr3421w>
4. Brady, M. F., & Sundareshan, V. (2021). Legionnaires' Disease. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430807/>
5. Bordi, L., Vulcano, A., Sberna, G., Nonis, M., Giacomini, P., Maggi, F., . . . Lalle, E. (2023). Co-Circulation of SARS-CoV-2 and Other Respiratory Pathogens in Upper and Lower Respiratory Tracts during Influenza Season 2022–2023 in Lazio Region. *Microorganisms*.
6. Butler, D. F., & Myers, A. L. (2018). Changing Epidemiology of Haemophilus influenzae in Children. In *Infectious Disease Clinics of North America* (Vol. 32, Issue 1, pp. 119–128). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2017.10.005>
7. Cherazard, R., Marcia, E., Thien-Ly, D., Tanzila, S., Sheena, B., & Miriam A., S. (2017). Antimicrobial resistant Streptococcus pneumoniae: Prevalence, Mechanisms, and Clinical Implications. *American Journal of Therapeutics*, 1-9
8. Chitasombat, M. N., Ratchatanawin, N., & Visessiri, Y. (2018). Disseminated extrapulmonary Legionella pneumophila infection presenting with panniculitis: case report and literature review. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3378-0>
9. Del-Río, C., Alcocer-Gamba, M. A., Escudero-Salamanca, M., Galindo-Fraga, A., Guarner, J., & Escudero, X. (2020). La pandemia de coronavirus SARS-CoV-2 (COVID-19): situación actual e implicaciones para México. *Cardiovascular and Metabolic Science*, 31(S3), 170–177. <https://doi.org/10.35366/93943>
10. Deng, X., Church, D., Vanderkooi, O. G., Low, D. E., & Pillai, D. R. (2013). Streptococcus pneumoniae infection: a Canadian perspective. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 781-791.
11. Ditte Høyer, E., Mogens, K., David S., G., Ebbe Sloth, A., & Rikke Schmidt, K. (2017). A visual review of the human pathogen Streptococcus pneumoniae. *Federation of European Microbiological Societies*.
12. di Pietro, M., Filardo, S., Romano, S., & Sessa, R. (2019). microorganisms Chlamydia trachomatis and Chlamydia pneumoniae Interaction with the Host:

Latest Advances and Future Prospective.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms7050140>

13. Fernández-Camargo, D. A., & Morales-Buenrostro, Luis Eduardo. (2020). Biología del SARS-CoV-2. *Revista Mexicana de Trasplantes*, 9(S2), 139–148. <https://doi.org/10.35366/94503>
14. Fiolet, T., Kherabi, Y., MacDonald, C. J., Ghosn, J., & Peiffer-Smadja, N. (2022). Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. In *Clinical Microbiology and Infection* (Vol. 28, Issue 2, pp. 202–221). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.10.005>
15. Gattuso, G., Rizzo, R., Lavoro, A., Spoto, V., Porciello, G., Montagnese, C., Cinà, D., Cosentino, A., Lombardo, C., Mezzatesta, M. L., & Salmeri, M. (2022). Overview of the Clinical and Molecular Features of *Legionella Pneumophila*: Focus on Novel Surveillance and Diagnostic Strategies. 11, 370. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030370>
16. Gautam, J., & Krawiec, C. (2021). Chlamydia Pneumonia. *Clinical Infectious Disease, Second Edition*, 1086–1088. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139855952.189>
17. Grief, S. N., & Loza, J. K. (2018). Guidelines for the Evaluation and Treatment of Pneumonia. In *Primary Care - Clinics in Office Practice* (Vol. 45, Issue 3, pp. 485–503). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2018.04.001>
18. Harrison, A. G., Lin, T., & Wang, P. (2020). Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. In *Trends in Immunology* (Vol. 41, Issue 12, pp. 1100–1115). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.004>
19. Hedberg, P., Johansson, N., Ternhag, A., Abdel-Halim, L., Hedlund, J., & Naucclér, P. (2022). Bacterial co-infections in community-acquired pneumonia caused by SARS-CoV-2, influenza virus and respiratory syncytial virus. *BMC Infectious Diseases*.
20. Holmes, E. C., Goldstein, S. A., Rasmussen, A. L., Robertson, D. L., Crits-Christoph, A., Wertheim, J. O., Anthony, S. J., Barclay, W. S., Boni, M. F., Doherty, P. C., Farrar, J., Geoghegan, J. L., Jiang, X., Leibowitz, J. L., Neil, S. J. D., Skern, T., Weiss, S. R., Worobey, M., Andersen, K. G., ... Rambaut, A. (2021). The origins of SARS-CoV-2: A critical review. In *Cell* (Vol. 184, Issue 19, pp. 4848–4856). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.08.017>
21. Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z.-L. (2020). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
22. Jain, S., Self, W. H., Wunderink, R. G., Fakhran, S., Balk, R., Bramley, A. M., Reed, C., Grijalva, C. G., Anderson, E. J., Courtney, D. M., Chappell, J. D., Qi, C., Hart, E. M., Carroll, F., Trabue, C., Donnelly, H. K., Williams, D. J., Zhu, Y., Arnold, S. R., ... Finelli, L. (2015). Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults. *New England Journal of Medicine*, 373(5), 415–427. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1500245>

23. Jiang, Z., Li, S., Zhu, C., Zhou, R., & Leung, P. H. M. (2021). Mycoplasma pneumoniae infections: Pathogenesis and vaccine development. *Pathogens*, 10(2), 1–18. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10020119>
24. Kadam, S. B., Geetika, |, Sukhramani, S., Pratibha Bishnoi, |, Pable, A. A., Vitthal, |, & Barvkar, T. (2021). SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000537>
25. Khattak, Z. E., & Anjum, F. (2021). Haemophilus Influenzae. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562176/>
26. Lai, C. C., Wang, C. Y., & Hsueh, P. R. (2020). Co-infections among patients with COVID-19: The need for combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents? In *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* (Vol. 53, Issue 4, pp. 505–512). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.05.013>
27. Lanks, C. W., Musani, A. I., & Hsia, D. W. (2019). Community-acquired Pneumonia and Hospital-acquired Pneumonia. In *Medical Clinics of North America* (Vol. 103, Issue 3, pp. 487–501). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.12.008>
28. Lee, S. H., Sheng-Yuan, R., Sung-Ching, P., Tai-Fen, L., Jung-Yien, C., & Po-Ren, H. (2019). Performance of a multiplex PCR pneumonia panel for the identification of respiratory pathogens and the main determinants of resistance from the lower respiratory tract specimens of adult patients in intensive care units. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 920-928.
29. Lisker-Halpert, A., Nuñez-Pérez Redondo, C., Kimura-Fujikami, K., & Luis Lazaro-Castillo, J. (n.d.). *La neumonía atípica por Legionella pneumophila. Informe del segundo caso en México*.
30. Manuel, C., & Pérez, M. (2016). Estudio clínico-epidemiológico de neumonía adquirida en la comunidad durante la edad pediátrica. Experiencia en el Hospital Ángeles Pedregal. [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
31. Martinez-Liu, C., Martínez-Acuña, N., Arellanos-Soto, D., Galan-Huerta, K., Lozano-Sepulveda, S., del Carmen Martínez-Guzmán, M., & Rivas-Estilla, A. M. (2021). SARS-CoV-2 in Mexico: Beyond Detection Methods, Scope and Limitations. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11010124>
32. Martínez-Vernaza, S., Mckinley, E., Juliana Soto, M., & Gualtero, S. (n.d.). *Neumonía adquirida en la comunidad: una revisión narrativa Community-Acquired Pneumonia: A Review of the Literature*. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed59-4>
33. Méndez-Lage, S., Losada-Castillo, I., & Agulla-Budiño, A. (2015). Streptococcus pneumoniae: distribución de serotipos, sensibilidad antibiótica, factores de riesgo y mortalidad en Galicia en un periodo de 2 años. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 579-584.
34. Merida-Vieyra, J., Aquino-Andrade, A., Palacios-Reyes, D., Murata, C., Maria Ribas-Aparicio, R., & de Colosa Ranero, A. (2019). Detection of Mycoplasma

- pneumoniae in Mexican children with community-acquired pneumonia: experience in a tertiary care hospital. <https://doi.org/10.2147/IDR.S193076>
35. Miyashita, N. (2022). Atypical pneumonia: Pathophysiology, diagnosis, and treatment. In *Respiratory Investigation* (Vol. 60, Issue 1, pp. 56–67). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.resinv.2021.09.009>
  36. Mohamadian, M., Chiti, H., Shogli, A., Biglari, S., Parsamanesh, N., & Esmaeilzadeh, A. (2021). COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *The journal of gene medicine*.
  37. Mondino, S., Schmidt, S., Rolando, M., Escoll, P., Gomez-Valero, L., & Buchrieser, C. (2019). Legionnaires' Disease: State of the Art Knowled of Pathogenesis Mechanisms of Legionella. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2020*, 15, 439–466. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis>
  38. Muralidar, S., Ambi, S. V., Sekaran, S., & Krishnan, U. M. (2020). The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. In *Biochimie* (Vol. 179, pp. 85–100). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.09.018>
  39. Oliva, A., Siccardi, G, Migliarini, A, Cancelli, F, Carnevalini, M, D'andria, M, Attilia, I, Danese, V C, Cecchetti, v, Romiti, R, Ceccarelli, G, Mastroianni, C M, Palange, P, & Venditti, M. (2020). Co-infection of SARS-CoV-2 with Chlamydia or Mycoplasma pneumoniae: a case series and review of the literature. *Infection*, 48, 871–877. <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01483-8>
  40. Parrott, G. L., Kinjo, T., & Fujita, J. (2016). *A Compendium for Mycoplasma pneumoniae*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00513>
  41. Porritt, R. A., & Crother, T. R. (2016). *Chlamydia pneumoniae Infection and Inflammatory Diseases*. <https://doi.org/10.1615/ForumImmunDisTher.2017020161>
  42. Premachandra, N. M., & Jayaweera, J. A. A. S. (2021). Chlamydia pneumoniae infections and development of lung cancer: systematic review. *Infectious Agents and Cancer*, 17, 11. <https://doi.org/10.1186/s13027-022-00425-3>
  43. Rider, A. C., & Frazee, B. W. (2018). Community-Acquired Pneumonia. In *Emergency Medicine Clinics of North America* (Vol. 36, Issue 4, pp. 665–683). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2018.07.001>
  44. Rodriguez, R. S., Mascarenas, C., Conde-Glez, C. J., Inostroza, J., Villanueva, S., Velázquez, M. E., Sánchez-Alemán, M. A., & Echániz, G. (2010). Serological protection induced by Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in Mexican children: Is a booster dose of the vaccine needed? *Clinical and Vaccine Immunology*, 17(10), 1639–1641. <https://doi.org/10.1128/CVI.00249-10>
  45. Romero-Espinoza, J. A., Moreno-Valencia, Y., Coronel-Tellez, R. H., Castillejos-Lopez, M., Hernandez, A., Dominguez, A., Miliar-Garcia, A.,

- Barbachano-Guerrero, A., Perez-Padilla, R., Alejandre-Garcia, A., & Vazquez-Perez, J. A. (2018). *Virome and bacteriome characterization of children with pneumonia and asthma in Mexico City during winter seasons 2014 and 2015*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192878>
46. Rosemol, V., Ranjith, J., & Balaji, V. (2017). Current challenges in the accurate identification of *Streptococcus pneumoniae* and its serogroups/serotypes in the vaccine era. *Journal of Microbiological Methods*.
  47. Saikku, P., Mattila, K., Nieminen, M. S., Huttunen, J. K., Leinonen, M., Ekman, M. R., Mäkelä, P. H., & Valtonen, V. (1988). Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet (London, England)*, 2(8618), 983–986. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(88\)90741-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(88)90741-6)
  48. Santos-López, G., Cortés-Hernández, P., Vallejo-Ruiz, V., & Reyes-Leyva, J. (2021). SARS-CoV-2: generalidades, origen y avances en el tratamiento. *Gaceta de México*, 157(1). <https://doi.org/10.24875/gmm.20000505>
  49. Saraya, T. (2017). *Mycoplasma pneumoniae* infection: Basics. In *Journal of General and Family Medicine* (Vol. 18, Issue 3, pp. 118–125). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/jgf2.15>
  50. Seyed Hosseini, E., Riahi Kashani, N., Nikzad, H., Azadbakht, J., Hassani Bafrani, H., & Haddad Kashani, H. (2020). The novel coronavirus Disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. *Virology*, 1-9.
  51. Sifuentes-Rodríguez, E., & Palacios-Reyes, D. (2020). COVID-19: The outbreak caused by a new coronavirus. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 77(2), 47–53. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.20000039>
  52. Struyf, T., Deeks, J. J., Dinnes, J., Takwoingi, Y., Davenport, C., Leeflang, M. M., . . . Van den Bruel, A. (2020). Signs and symptoms to determine if a patient presenting in primary care or hospital outpatient settings has COVID-19 disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
  53. Surinder, K. (2018). *Mycoplasma pneumoniae*: A significant but underrated pathogen in paediatric community-acquired lower respiratory tract infections. *Indian Journal of Medical Research*. [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR\\_1582\\_16](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1582_16)
  54. Taylor, S. L., Leong, L. E. X., Mobegi, F. M., Choo, J. M., Wesselingh, S., Yang, I. A., Upham, J. W., Reynolds, P. N., Hodge, S., James, A. L., Jenkins, C., Peters, M. J., Baraket, M., Marks, G. B., Gibson, P. G., Rogers, G. B., & Simpson, J. L. (2019). Long-Term Azithromycin Reduces *Haemophilus influenzae* and Increases Antibiotic Resistance in Severe Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 200(3), 309–317. <https://doi.org/10.1164/rccm.201809-1739OC>

55. Vacunología, A. M. (11 de Agosto de 2022). *Asociación Mexicana de Vacunología*. Obtenido de <https://vacunacion.org/2022/08/11/neumococo-en-mexico/>
56. Vandana Kalwaje Eshwara, Chiranjay Mukhopadhyay, & Jordi Rello. (2020). *Community-acquired bacterial pneumonia in adults: An update*. [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR\\_1678\\_19](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1678_19)
57. V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., & Thiel, V. (2021). Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nature Reviews Microbiology*. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>
58. Waites, K. B., Xiao, L., Liu, Y., Balish, M. F., & Atkinson, T. P. (2017). *Mycoplasma pneumoniae from the Respiratory Tract and Beyond*. <https://doi.org/10>
59. Weiser, J. N., Ferreira, D. M., & Paton, J. C. (2018). Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion. *Nature Reviews Microbiology*, 355-367.
60. Wen, S., Feng, D., Chen, D., Yang, L., & Xu, Z. (2020). Molecular epidemiology and evolution of Haemophilus influenzae. In *Infection, Genetics and Evolution* (Vol. 80). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104205>
61. Westblade, L. F., Simon, M. S., & Satlin, M. J. (2021). Bacterial Coinfections in Coronavirus Disease 2019. *Trends in Microbiology*, 930-941.
62. Yin, X., Chen, Y.-Z., Ye, Q.-Q., Liao, L.-J., Cai, Z.-R., Lin, M., Li, J.-N., Zhang, G.-B., Peng, X.-L., Shi, W.-F., & Guo, X.-G. (2022). Detection performance of PCR for Legionella pneumophila in environmental samples: a systematic review and meta-analysis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 21, 12. <https://doi.org/10.1186/s12941-022-00503-9>
63. Zivich, P. N., Grabenstein, J. D., Becker-Dreps, S. I., & Weber, D. J. (2018). Streptococcus pneumoniae outbreaks and implications for transmission and control: a systematic review. *Pneumonia*.

## XIV. ANEXOS

### 11.1. Documentos complementarios

### 11.2. Productos Académicos



SE OTORGA LA PRESENTE

# CONSTANCIA

A:

**CASTRO VALENZUELA MOISES JESUS, RENDÓN MALDONADO JOSÉ  
GUADALUPE, DURÁN PÉREZ SERGIO ALONSO**

Por su participación en la presentación del póster científico con el trabajo titulado  
**“ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE COINFECCIÓN DE SARS-COV-2 CON  
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE, CHLAMYDIA PNEUMONIAE, LEGIONELLA  
PNEUMONIAE, MYCOPLASMA PNEUMONIAE Y HAEMOPHILUS INFLUENZAE EN  
MUESTRAS DE HISOPADO NASOFARÍNGEO DEL ESTADO DE SINALOA”** impartida el  
día 25 de octubre de 2022, en el marco del Simposium Internacional, 80 aniversario de  
QFB.



ATENTAMENTE  
**SURSUM VERSUS**  
CULIACÁN, SINALOA, OCTUBRE 2022

**Eusiel Rubio Castro**  
DR. EUSIEL RUBIO CASTRO  
DIRECTOR FCQB

## XV. SIGLAS Y ABREVIACIONES

ACE-2: enzima convertidora de angiotensina 2

CARDS: síndrome de dificultad respiratoria adquirido en la comunidad

CDC: centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

CLIA: ensayo de quimioluminiscencia

Covid-19: enfermedad causada por el SARS-CoV-2

ELISA: ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas

FER: protooncogén tirosina-proteína cinasa

IL-1 $\beta$ : interleucina 1 beta

IL-8: interleucina 8

LFA: ensayo de flujo lateral

NAC: neumonía adquirida en la comunidad

NAH: neumonía adquirida en el hospital

NSPS: proteína no estructural

OMS: organización mundial de la salud

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

RFLP: fragmentos de restricción de longitud polimórfica

RTC: complejo viral replicación-transcripción

RT-qPCR: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

rRNA: ácido ribonucleico ribosomal

SARS-CoV-2: coronavirus tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo severo

SSA: secretaría de salud

TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa

$\mu$ m: micrómetro