

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE RINOVIRUS HUMANO
(RVH) ASOCIADOS A INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS (IRA) EN
PANAMÁ, ENTRE LOS AÑOS 2011- 2016

Asesor principal:
Leyda Ábrego

Por:
Maryory Rodríguez
Josué Quiroz

“En las naciones débiles y pequeñas, como la nuestra, sobre las cuales se ciernen los nubarrones del imperialismo, cultura general, ciencia e investigación, significan más que en ninguna otra, autonomía, personalidad y libertad efectivas”

Octavio Méndez Pereira

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, por darme fortaleza, guía y paz en los momentos en los que más lo necesité, y por acompañarme a lo largo de este camino. A mi familia, por su amor incondicional, sacrificio y comprensión. A mi mamá, por ser siempre el apoyo al que pude recurrir cuando mi corazón se sintió triste. A mi papá, por creer en mí y enseñarme el valor del esfuerzo y el trabajo. A mi abuela Ana, por todas las veces en que su comida me hizo sentir cerca de casa, aun estando lejos. A mi perrito Ray, quien me recibía con alegría cada vez que volvía a casa y se quedaba a mi lado mientras yo estudiaba.

De manera especial a mis amigas de la infancia, Natalia y Anabelis, porque con ellas la distancia nunca importó. A los amigos que hice durante la carrera, por hacer este proceso un poco más ligero. En especial a Adelenis, que me ha regalado su amistad sincera y ha sido un pilar indispensable junto con Josué, el hermano que la vida me dio.

Expreso mi gratitud a cada una de las personas que me acompañaron en este proceso, aunque hoy ya no estén.

Y finalmente, a mí, por ser resiliente y no rendirme.

Maryory Yaillen Rodríguez Bonilla

DEDICATORIA

Al único Dios todopoderoso Yahweh.

Quiero dedicar este trabajo con amor a mi madre Amalia, quien ha sido mi leal guía y soporte, ella ha impulsado esta carrera con amor, mucho apoyo moral y fe, es la primera en creer que puedo llegar lejos, siempre con un consejo y una oración, le amo mamá y ojalá me alcance la vida para ayudarle a cumplir los sueños que tiene, sonreír y disfrutar juntos.

A mi familia por enseñarme que el esfuerzo paga bien, por ser esa carga al alma, transmitir paz y tranquilidad cuando el estrés más me abrumaba. Gracias a mi compañerita de tesis Mar, tu leal compañía hizo la carga de esta carrera más ligera, gracias por enseñarme tanto, tenerme paciencia, y sobre todo ser mi amiga. A Ade por motivarnos a ser mejores científicos y dar lo mejor de nosotros donde sea, ser ese hombro amigo en medio del dolor y la sonrisa refrescante en los días más soleados. A Mel por adoptarme y ser mi familia cuando estuve solo, nunca alejarte y siempre apoyar desde el corazón. A los profesores de la Escuela de Biología que me inspiraron a soñar un futuro en la ciencia. A Valiente, Pepe y Foxy.

Al niño santafereño soñador.

Josué Anel Quiroz

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios, por su amor y misericordia inagotable, por brindarnos sabiduría, fortaleza y perseverancia en medio de todas las pruebas que afrontamos en esta carrera, por el éxito obtenido y las derrotas que nos moldearon en el caminar.

A nuestras familias por su apoyo incondicional y sacrificio. Por brindarnos amor, hogar y educación, por ser el soporte y el sostén emocional en momentos de cansancio y duda, y por celebrar cada logro ya sea grande o pequeño.

Con profundo agradecimiento a nuestros asesores, la Dra. Leyda Ábrego, el Mgtr. Zeuz Capitan y Mgtr. Danilo Franco por su orientación, corrección y constante disposición para la mejora continua de este trabajo de investigación. En especial a la Dra. Leyda Ábrego por creer en nosotros, ser un ejemplo de superación y modelo profesional a seguir, siempre valoraremos su disposición de enseñar y hacer sentirnos escuchados.

Al Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES) por brindar el espacio a estudiantes de crecer en ciencia, en especial el departamento de investigación en Virología y Biotecnología.

A la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT) por el financiamiento del proyecto por medio de la convocatoria “SEMILLERO DE INVESTIGACIÓN EN EDUCACIÓN SUPERIOR 2025 RONDA I”.

A todos nuestros amigos de vida y compañeros en la carrera: Yenifer, Ade, Melanie, Rafa, Ann, Sher, Jhonny, Genésis, Stephy, Alex, Melany, Anaís, Dereck, Jonathan, Dayra, Kiria, Moisés, Emanuel, Gabriela y Carlos Pittí.

A quienes formaron parte de esta etapa y contribuyeron, de una u otra forma, a este proceso.

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL	6
ÍNDICE DE IMÁGENES	9
ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS	10
ABREVIATURAS	11
RESUMEN	14
ABSTRACT	15
INTRODUCCIÓN	16
JUSTIFICACIÓN	19
OBJETIVOS	20
CAPÍTULO I	21
1. Marco teórico	22
1.1 Antecedentes Históricos	22
1.2 Agente causal	23
1.2.1 Morfología y Genoma.....	24
1.2.1.1 Diversidad y variabilidad.....	25
1.2.2 Taxonomía viral.....	27
1.3 Ciclo replicativo	28
1.4 Patogénesis	30
1.4.1 Trasmisión.....	31
1.4.2 Síntomas.....	33
1.4.2.1 Vías respiratorias superiores.....	34
1.4.2.2 Vías respiratorias inferiores.....	34
1.4.3 Respuesta inmune.....	36
1.4.3.1 Respuesta inmune innata.....	36
1.4.3.2 Respuesta inmune adaptativa.....	39
1.4.4 Complicaciones / exacerbaciones.....	40

1.4.4.1 Exacerbaciones de asma y EPOC.....	41
1.5 Coinfecciones.....	43
1.6 Epidemiología Molecular.....	44
CAPÍTULO II.....	48
2. Marco metodológico.....	49
2.1 Tipo de estudio.....	49
2.2 Selección de las muestras.....	49
2.3 Extracción.....	49
2.4. Amplificación del material genético.....	50
2.5 Electroforesis.....	51
2.6 Purificación del producto amplificado.....	52
2.7 Reacción de secuenciación.....	53
2.8 Purificación de la reacción de secuenciación.....	54
2.9 Análisis de secuencias.....	54
2.10 Análisis de la diversidad genotípica de los resultados.....	55
CAPÍTULO III.....	56
3. Resultados.....	57
3.1 Fragmento amplificado.....	57
3.2 Secuencias obtenidas.....	58
3.3 Genotipos según la condición clínica.....	61
3.4 Distribución temporal de las especies.....	61
3.5 Datos epidemiológicos.....	62
3.6 Distribución geográfica de genotipos identificados.....	63
3.7 Árboles filogenéticos.....	65
3.8 Distribución de genotipo por grupo etario.....	67

CAPITULO IV	68
4. Discusión	69
CAPÍTULO V	72
5. Conclusiones y recomendaciones	73
5.1 Conclusiones	73
5.2 Recomendaciones	75
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXOS	89

ÍNDICE DE IMÁGENES

- **Figura 1:** Esquema de la traducción y escisión proteica del género Enterovirus.....**23**
- **Figura 2:** Estructura tridimensional del rinovirus B14.....**24**
- **Figura 3:** Ciclo replicativo del género Enterovirus.....**29**
- **Figura 4:** Descripción general de la transmisión del rinovirus humano (RVh).....**32**
- **Figura 5:** Reconocimiento del rinovirus humano (RVh) y activación de la respuesta inmune innata en células epiteliales.....**38**
- **Figura 6:** Detección de virus respiratorios en niños menores de 5 años con IRA en Panamá desde el 2011-2019.....**47**
- **Figura 7:** Electroforesis de fragmentos de ADN 549bp en un gel de agarosa al 2%.....**57**
- **Figura 8:** Distribución geográficas de secuencias estudiadas (2011-2016) en Panamá.....**63**
- **Figura 9:** Árbol filogenético de a región VP2-VP4 de rinovirus humano (RVh).....**65**
- **Figura 10:** Árboles filogenéticos de la región VP2-VP4 de rinovirus humano (RVh) por especie: *Enterovirus alpharhino*, *Enterovirus betarhino*, *Enterovirus cerhino*.....**66**

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS

TABLAS

- **Tabla 1:** Cebadores utilizados para la amplificación del fragmento VP4/VP2 del rinovirus humano.....**50**
- **Tabla 2:** Condiciones de ciclado utilizadas en la reacción de RT-PCR para RVh.....**51**
- **Tabla 3:** Parámetros de temperatura y tiempo empleados en la reacción de secuenciación.....**54**
- **Tabla 4:** Resultados obtenidos de la secuenciación de muestras positivas de RVh.....**58**
- **Tabla 5:** Características epidemiológicas y clínicas de las secuencias analizadas por año (2011-2016).....**60**

GRÁFICAS

- **Gráfica 1.** Distribución de 31 genotipos de rinovirus humano, estratificados por condición clínica.....**61**
- **Gráfica 2.** Distribución Anual de las Especies de Rinovirus Humano (RVh) Genotipificadas en Panamá, 2011–2016.....**62**
- **Gráfica 3.** Distribución geográfica de los genotipos de RVh por provincia en Panamá durante el periodo de estudio.....**64**
- **Gráfica 4.** Distribución de genotipos de rinovirus humano (RVh) según el grupo etario de los pacientes analizados entre 2011 y 2016.....**67**

ABREVIATURAS

1. **RVh**: Rinovirus humano.
2. **RVh-A**: *Enterovirus alpharhino*
3. **RVh-B**: *Enterovirus betarhino*
4. **RVh-C**: *Enterovirus cerhino*
5. **IRA**: Infección respiratoria aguda
6. **ARN**: Ácido ribonucleico
7. **ADNc**: Ácido desoxiribonucleico complementario
8. **Kb**: Kilobase
9. **ORF**: Open Reading Frame (Marco de lectura abierto)
10. **UTR**: Untranslated Region (Región no traducida)
11. **VPg**: Viral Protein genome-linked (Proteína viral unida al genoma)
12. **Nims**: Neutralizing Immunogenic Sites (epítomos inmunogénicos neutralizantes)
13. **ICAM-1**: Intercellular Adhesion Molecule-1 (Molécula 1 de adhesión intercelular)
14. **CDHR3**: Cadherin Related Family Member 3 (Miembro 3 de la familia de cadherinas relacionadas)
15. **OR**: Orgánulos de replicación
16. **ACBD3**: Acyl-CoA Binding Domain-Containing protein 3 (proteína 3 que contiene dominio de unión a acil-CoA)
17. **PI4KIII β** : Fosfatidilinositol 4-quinasa-III β
18. **OSBP**: Oxysterol-Binding Protein (Proteína de unión a oxisteroles)
19. **ORP4**: Oxysterol-Binding Protein-Related Protein 4 (Proteína relacionada con OSBP tipo 4)
20. **3Dpol**: ARN-polimerasa dependiente de ARN del RVh
21. **ROS**: Reactive Oxygen Species (Especies reactivas de oxígeno)
22. **Ct**: Cycle Threshold (Umbral de Ciclos)
23. **PCR**: Polymerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
24. **RT-PCR**: Reverse Transcription PCR (PCR con transcripción inversa)
25. **IVRS**: Infección de vías respiratorias superiores
26. **IVRI**: Infección de vías respiratorias inferiores

27. **IFN**: Interferón
28. **CXCL10**: Quimioquina CXCL10 (inducida por interferón gamma)
29. **PAMP**: Pathogen-Associated Molecular Patterns (Patrones moleculares asociados a patógenos)
30. **TLR**: Toll-Like Receptors (Receptores tipo Toll)
31. **RLR**: RIG-I-Like Receptors (Receptores tipo RIG-I)
32. **MDA-5**: Melanoma Differentiation-Associated protein 5 (Proteína asociada a diferenciación de melanoma 5)
33. **TNF- α** : Factor de necrosis tumoral alfa.
34. **IFN- β** : Interferón beta
35. **IFN- γ** : Interferón gama
36. **RANTES**: Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted.
37. **IP-10**: Proteína inducida por interferón gamma 10
38. **IL-6**: Interleucina 6
39. **ENA**: Epithelial Neutrophil-Activating peptide 78 (Péptido activador de neutrófilos 78)
40. **Células NK**: Natural Killer cells (Células asesinas naturales)
41. **LDLR**: Low-Density Lipoprotein Receptor (Receptor de lipoproteínas de baja densidad)
42. **Helicasas RIG**: Helicasas inducibles por ácido retinoico
43. **MyD88**: Myeloid Differentiation Primary Response 88 (Respuesta primaria de diferenciación mieloide 88)
44. **MAVS**: Mitochondrial Antiviral Signaling protein (Proteína de señalización antiviral mitocondrial)
45. **IgG**: Inmunoglobulina G
46. **IgA**: Inmunoglobulina A
47. **Th1**: Linfocitos T colaboradores tipo 1
48. **EV**: Enterovirus
49. **VRS**: Virus respiratorio sincitial
50. **AdV**: Adenovirus
51. **hCoV**: Coronavirus humano

- 52. **hPIV**: Virus parainfluenza humano
- 53. **EPOC**: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
- 54. **NAC**: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
- 55. **UCI**: Unidad de cuidados intensivos
- 56. **OMS**: Organización mundial de la salud
- 57. **ICVT**: Comité internacional de taxonomía viral
- 58. **TBE**: Tris-Borato-EDTA 0.5x
- 59. **UV**: Luz ultravioleta
- 60. **DEPC**: Dietilpirocarbonato
- 61. **RCF**: Relative Centrifugal Force (fuerza centrífuga relativa).

RESUMEN

El rinovirus humano (RVh), principal agente causal del resfriado común es un patógeno con una alta diversidad genética (clasificado en tres especies: RVh-A, RVh-B y RVh-C, subtipificadas en 169 genotipos) y tiene el potencial de causar infecciones respiratorias graves, como neumonía y exacerbaciones del asma, especialmente en poblaciones vulnerables. A nivel mundial, esta variabilidad genética dificulta el desarrollo de vacunas y resalta la importancia de la vigilancia activa de los genotipos circulantes. Sin embargo, en Panamá, los estudios sobre el RVh son escasos y se limitan a informes de circulación entre 2010 y 2011.

El objetivo principal de este estudio es identificar la diversidad genotípica del rinovirus humano en pacientes con infecciones respiratorias agudas, generando datos clave para la vigilancia epidemiológica nacional. Para ello, se analizaron muestras nasofaríngeas positivas para RVh del Programa de Vigilancia Epidemiológica de la Influenza y Otros Virus Respiratorios. Se extrajo material genético y se amplificaron las regiones genómicas VP2-VP4 para su posterior secuenciación y análisis filogenético.

Este estudio reveló la circulación de 31 genotipos caracterizados a partir de 46 secuencias distribuidas entre las tres especies virales. La mayor diversidad se observó en RVh-A (54,8%), seguido de RVh-B (38,7%) y RVh-C (6,5%). Los genotipos predominantes fueron: RVh-A12 (13,04%) y el RVh-C6 (10,87%). El 82,60% de los casos correspondieron a pacientes hospitalizados. En cuanto a los grupos de edad, la mayor prevalencia se observó en lactantes de 1 a 3 meses (23,91%) y de 9 meses a 1 año (23,91%). De las 46 muestras analizadas, 6 (13,04%) presentaron coinfección con otro agente viral, siendo el más frecuente el virus de la Parainfluenza tipo 1 (hPIV-1) (2/6).

El estudio demuestra una alta diversidad genética de RVh en Panamá, con predominio de RVh-A en menores de cinco años, resaltando la importancia de fortalecer su vigilancia molecular en Panamá.

ABSTRACT

Human rhinovirus (HRV), the main causative agent of the common cold, is a pathogen with high genetic diversity (classified into three species HRV-A, HRV-B, and HRV-C subtyped into 169 genotypes) and has the potential to cause severe respiratory infections such as pneumonia and asthma exacerbations, particularly in vulnerable populations. Globally, this genetic variability complicates vaccine development and highlights the importance of active surveillance of circulating genotypes. However, in Panama, studies on HRV are scarce and limited to reports of circulation between 2010 and 2011.

The main objective is to identify the genotypic diversity of human rhinovirus in patients with acute respiratory infections, generating key data for national epidemiological surveillance. For this purpose, HRV-positive nasopharyngeal samples from the Epidemiological Surveillance Program for Influenza and Other Respiratory Viruses were analyzed. Genetic material was extracted, followed by amplification of the VP2–VP4 genomic regions for subsequent sequencing and phylogenetic analysis.

This study revealed the circulation of 31 genotypes characterized from 46 sequences distributed among the three viral species. The greatest diversity was observed in HRV-A (54.8%), followed by HRV-C (38.7%) and HRV-B (6.5%). The predominant genotypes were HRV-A12 (13.04%) and HRV-C6 (10.87%). A total of 82.60% of the cases corresponded to hospitalized patients. Regarding age groups, the highest prevalence was observed among infants aged 1–3 months (23.91%) and 9 months to 1 year (23.91%). Of the 46 samples analyzed, 6 (13.04%) showed coinfection with another viral agent, the most frequent being Parainfluenza virus type 1 (HPIV-1) (2/6).

The study demonstrates high genetic diversity of HRV in Panama, with a predominance of HRV-A in children under five years of age, highlighting the importance of strengthening its molecular surveillance in Panama.

INTRODUCCIÓN

Cada año los virus respiratorios constituyen una de las principales causas de infecciones respiratorias agudas (IRA) en todo el mundo. Aunque afectan a individuos de todas las edades, la población pediátrica y los adultos mayores constituyen los grupos más vulnerables, concentrando el mayor número de hospitalizaciones. Estos agentes virales poseen elevadas tasas de infección que aunado a infecciones oportunistas de patógenos como bacterias u otros virus incrementan el número de pacientes con IRA. A su vez las tasas de mortalidad experimentan un aumento debido a distintos factores que interactúan con estas infecciones como son las comorbilidades y la creciente preocupación ante la resistencia antimicrobiana.

Se estima que al año mueren 4,25 millones de personas a causa de IRA en todo el mundo, existe una alta incidencia de infección por virus respiratorios en pacientes con comorbilidades, adultos mayores y niños, lo que conlleva a considerar esta población como vulnerable ya que corren el riesgo de desarrollar IRA asociadas a virus respiratorios. Teniendo en cuenta este contexto, es fundamental conocer a uno de los agentes virales con mayor circulación e importancia clínica relacionado con infecciones respiratorias agudas en el mundo, el rinovirus humano (RVh).

El RVh es responsable directo de los “resfriados comunes” y es considerado como uno de los principales agentes causales de infecciones respiratorias agudas en el tracto respiratorio superior. Entre los síntomas más frecuentes de estas infecciones se encuentran dolor de garganta, rinorrea, cefalea, tos, malestar general y fiebre baja. Además, es asociado comúnmente a exacerbaciones graves de pacientes con enfermedad pulmonar crónica (EPOC) y también se caracteriza por presentar las primeras manifestaciones de EPOC en personas que ya tenían un daño pulmonar no diagnosticado. En enfermedades crónicas como el asma se discute que RVh es el principal causante de lo que se conoce como asma inducida por virus, además RVh está presente en el 60% de las exacerbaciones de asma en niños (Hayashi et al., 2022).

Los análisis epidemiológicos discuten que en promedio los adultos tienen de 2 a 5 episodios de resfriado común por año, mientras que los niños tienen entre 7 y 10 episodios por año (Eccles, 2005). Van Bentem et al. (2003) encontraron RVh en el 27% de los episodios de resfriado común en niños de 6 meses y en el 60% en niño de 24 meses.

Si bien RVh es asociado como la causa más frecuente de síntomas de “resfriado común”, el trabajo en la última década mostró que RVh también está presente en tasas altas de individuos asintomáticos y que incluso estas infecciones asintomáticas pueden desencadenar la expresión de anticuerpos en la mucosa de las vías respiratorias. Esta expresión de anticuerpos puede llegar a enmascarar las infecciones por RVh lo que dificulta su detección y, en consecuencia, su registro en los controles epidemiológicos. Sumado a ello los pacientes asintomáticos se convierten en importantes focos de infección dentro de la población, pasando inadvertidos para los sistemas de vigilancia epidemiológica (Wu et al., 2020).

En estudios clínicos recientes, se han descrito coinfecciones de RVh con otros agentes infecciosos y a su vez estas coinfecciones se asocian con una estadía hospitalaria más prolongada en comparación con la infección por RVh sola (Esneau et al., 2022). Alkindi et al. (2020) describieron cómo las coinfecciones por RVh exhiben una alta prevalencia vinculada con varios organismos bacterianos, lo que sugiere que la presencia viral puede alterar el entorno del tracto respiratorio para favorecer la colonización bacteriana (Alkindi et al., 2020).

Las herramientas de biología molecular como PCR y RT-PCR facilitan la detección de RVh y otros virus respiratorios de relevancia clínica, en tiempos realmente cortos, esto permite una respuesta rápida hacia el sistema sanitario y la evaluación de un tratamiento apropiado. Los avances en la secuenciación de genomas completos y estudios moleculares sobre la replicación y patogénesis del RVh han permitido clasificar a este virus a través del estudio de la región VP2 y VP4 y 5’ UTR en 3 especies dentro del género *Enterovirus*: *Enterovirus alfarino*, *Enterovirus betarino*,

Enterovirus cerhino, esto según el comité internacional de taxonomía viral (ICTV) (2025).

En Panamá el Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES) lleva el Sistema de Vigilancia Nacional para Influenza y otros Virus Respiratorios, que con herramientas de detección molecular se encarga de detectar RVh en muestras obtenidas de hisopados nasofaríngeos provenientes de 14 regiones de salud del país. Este sistema de vigilancia reporta que para el periodo 2011-2016 RVh circuló en nuestro país durante todo el año durante el periodo antes mencionado, este siendo el segundo con mayor predominancia después de RSV (Virus sincitial respiratorio) en niños menores de 5 años. *Ver Figura 6.*

JUSTIFICACIÓN

A pesar de que RVh es una de las principales causas de infecciones respiratorias en el mundo, existen pocos trabajos sobre su caracterización molecular en la región, incluyendo a Panamá donde se ha realizado un solo reporte que incluyó el análisis de muestras entre mediados del 2010 a mediados del 2011. Este estudio evidenció una mayor frecuencia de detección de las especies RVh-A (60%, n = 37) y RVh-C (32%, n = 20), en comparación con RVh-B (8%, n = 5). Dichos resultados confirmaron la alta variabilidad genética de este virus en nuestro país, lo que demuestra el vacío de información y, por ende, la necesidad de fortalecer la vigilancia epidemiológica molecular de este virus en la región. Establecer esta vigilancia permite identificar los genotipos circulantes, detectar la posible introducción de nuevas variantes y establecer correlaciones con la severidad clínica en grupos vulnerables.

La reciente pandemia causada por el virus del SARS CoV-2 permitió un acercamiento entre clínicos y la comunidad científica para diseñar estrategias innovadoras y lograr contener los contagios de este virus respiratorio. Según la OMS se estima que murieron cerca de 15 millones de personas en todo el mundo, entre los casos confirmados y sin confirmar, esto debido al colapso de sistemas sanitarios en una gran cantidad de países. Un conocimiento previo de ese virus permitió la acción oportuna de tratamientos y el desarrollo de vacunas en tiempo récord. La generación de conocimiento previo acerca de los diferentes patógenos que asechan a la humanidad, a menudo es clave para trazar las rutas de contención de posibles brotes y epidemias de forma estratégica y oportuna.

Este estudio busca caracterizar las cepas de RVh que circularon entre 2011 a 2016, obteniendo datos clave que contribuyan a actualizar el conocimiento sobre la diversidad genética del virus en el país fortaleciendo la vigilancia epidemiológica. Este conocimiento contribuye a la identificación de grupos de riesgo en la población panameña.

OBJETIVOS

Objetivo General

Caracterizar la diversidad genotípica de Rinovirus humano en pacientes con infección respiratoria aguda durante los años 2011 al 2016 en Panamá.

Objetivos específicos

- Determinar los genotipos de Rinovirus humano circulantes en Panamá a través del análisis de secuencias genéticas obtenidas de muestras positivas entre los años 2011-2016.
- Comparar los genotipos de Rinovirus humano identificados en Panamá con aquellos reportados en otras regiones para establecer posibles relaciones filogenéticas y patrones de circulación regional.

CAPÍTULO I

1. Marco teórico

1.1 Antecedentes históricos

El rinovirus humano fue aislado por primera vez en la Universidad Johns Hopkins 1956 por el Dr. Winston Price, y poco tiempo después se estableció que constituía el principal agente asociado a los síntomas del resfriado común en adultos (Price, 1956). Este suceso marcó el avance decisivo en el aislamiento de rinovirus y el inicio de los procesos de caracterización virológica, facilitando la diferenciación de este nuevo virus con respecto a otros virus respiratorios que se mantenían circulando.

A finales de la década de 1950 y principios de los años 60, varios centros de investigación comenzaron a aislar y describir cepas adicionales de rinovirus usando cultivos celulares sensibles a bajas temperaturas, lo que resultó clave para su propagación in vitro. Años más tarde, en 1961, el término “rinovirus” fue propuesto formalmente por Christopher Andrewes. Este término se asociaba con la marcada preferencia del virus por replicarse en el epitelio nasal (Tyrrell & Chanock, 1963). El nombre fue adoptado posteriormente por la comunidad científica y utilizado como base para la clasificación inicial del grupo dentro de la familia Picornaviridae.

En 1984 se publicó el primer genoma completo de un rinovirus humano (Stanway et al., 1984), lo que permitió caracterizar su organización genética y sentó las bases para la futura clasificación molecular de este virus. Pocos años después, en 1987, ya se habían descrito alrededor de 100 serotipos gracias al avance de los cultivos celulares y de las técnicas serológicas, que facilitaron el aislamiento y diferenciación de múltiples variantes antigénicas del rinovirus humano (Hamparian et al., 1987).

Tras el desarrollo de técnicas moleculares avanzadas como el uso de la RT-PCR se logró una reclasificación más precisa, estableciendo las tres especies principales: RVh-A, RVh-B y RVh-C, esta última fue descubierta en 2006 tras su detección mediante pruebas de nueva generación (Dominguez et al., 2008).

1.2 Agente causal

El rinovirus humano (RVh) es un virus de ARN perteneciente a la familia *Picornaviridae* y al género *Enterovirus*, reconocido como la causa principal del resfriado común. Presenta un genoma monocatenario de polaridad positiva, sin envoltura, de aproximadamente 7300 nucleótidos. Este genoma consta de un único marco de lectura abierto (ORF) con regiones no traducidas (UTR) en los extremos 5' y 3'. El ORF codifica una poliproteína, que es procesada por proteasas virales en 11 proteínas, cuatro proteínas estructurales virales de la cápside (VP1, VP2, VP3 y VP4) y siete proteínas no estructurales (2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C y 3D) que se observan en la figura 1. (Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023) (Malekshahi et al., 2022). Este virus presenta una fuerte afinidad por las células del epitelio nasal, donde su replicación se ve favorecida por temperaturas cercanas a los 33–35 °C (Jacobs et al., 2013). Actualmente se reconocen tres especies de RVh: *Enterovirus alpharhino* (RVh-A), *Enterovirus betarhino* (RVh-B) y *Enterovirus cerhino* (RVh-C), subclasificadas a su vez en 169 genotipos: 80 genotipos para RV-A, 32 para RV-B y 57 para RV-C (Esneau et al., 2022; McIntyre et al., 2013; *Genus: Enterovirus* | ICTV, 2025). Estas especies presentan variaciones genéticas y utilizan distintos receptores celulares, factores que explican su diversidad biológica y su capacidad para afectar a un amplio rango de la población, especialmente a niños y a personas con afecciones respiratorias previas.

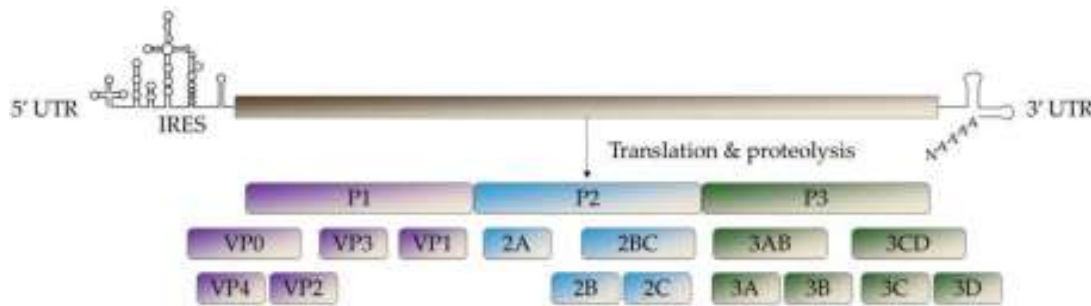


Fig. 1. Esquema de la traducción y escisión proteica del género *Enterovirus*. El genoma se traduce en una sola poliproteína (P1 a P3) y luego se escinde en cuatro proteínas estructurales y siete proteínas no estructurales. IRES: sitio de entrada interno al ribosoma. UTR: región no traducida (Rahajamanana et al., 2025).

1.2.1 Morfología y genoma

Los rinovirus humanos son virus pequeños sin envoltura de aproximadamente 15–30 nm (Dreschers et al., 2006). Su genoma está compuesto por un ARN monocatenario de polaridad positiva con un único marco de lectura abierto (ORF) unido a una región 5' no traducida (5'UTR) y una proteína de cebado viral corta (VPg). El ORF codifica una poliproteína, que es procesada por proteasas virales en 11 proteínas individuales. La cápside viral está formada por cuatro proteínas (VP1, VP2, VP3 y VP4), responsables de su diversidad antigénica, mientras que las proteínas no estructurales participan en la replicación y el ensamblaje del genoma viral (Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023). La proteína VP1 se localiza en la superficie externa y es el principal objetivo de la respuesta inmunitaria, si bien la VP2 y la VP3 contribuyen a la antigenicidad. La VP4 se localiza en la superficie interna de la cápside e interactúa con el genoma (Royston & Tapparel, 2016) como se ilustra en la Figura 2.

Existen 60 copias de cada una de las cuatro proteínas de la cápside, lo que confiere al virión una estructura icosaédrica, con una hendidura en VP1 que sirve como sitio de unión a los receptores de la superficie celular (Jacobs et al., 2013).

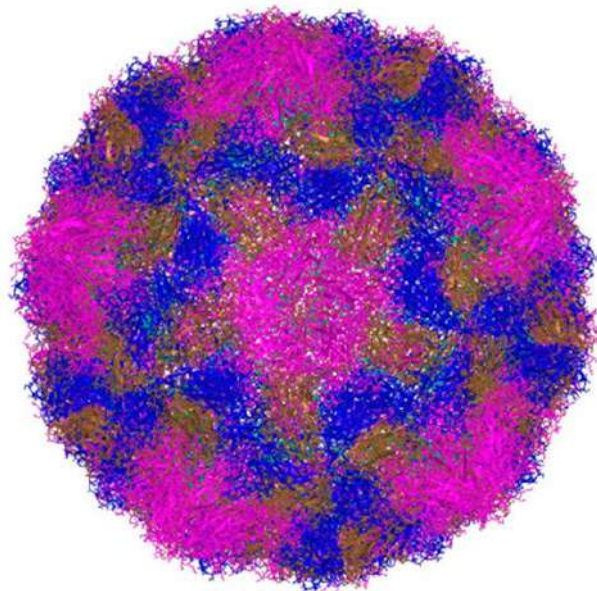


Fig.2. Estructura tridimensional del rinovirus B14 (representación original; ID MMDB: 225640). Leyenda de colores: subunidad de la cápside VP1 (rosa), subunidad de la cápside VP2 (marrón), subunidad de la cápside VP3 (azul), subunidad de la cápside VP4 (verde). Fuente: Resumen de Estructuras del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), MMDB. Las representaciones se realizaron con el visor de estructuras iCn3D, utilizando Three.js y jQuery. (Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023).

La UTR 5' posee el sitio interno de entrada al ribosoma (IRES), que es esencial para reclutar ribosomas para el inicio de la traducción (Esneau et al., 2022). El marco de lectura abierto (ORF) se divide en tres regiones: la primera, P1, codifica las proteínas de la cápside (VP1 a VP4), mientras que las siguientes, P2 y P3, codifican las proteínas no estructurales (2A a 2C y 3A a 3D). El RVh exhibe altas tasas de mutación y recombinación, particularmente en la unión 5'UTR-cápside y al comienzo de la región P2, lo que contribuye a su diversidad genética y evolución.

En cuanto a los elementos estructurales, una estructura en forma de trébol se ubica cerca del IRES en la 5'UTR y un pequeño bucle en la 3'UTR. Otra estructura de bucle, el elemento de replicación *cis* (*cre*), se encuentra en diferentes posiciones a lo largo de la región codificante de la poliproteína, dependiendo de la especie viral. (Royston & Tapparel, 2016).

La epidemiología molecular global del RVh se basa en la asociación filogenética de la secuencia genética de la VP1 (Rahajamanana et al., 2025), también el uso de umbrales de identidad de secuencia para la asignación de tipo en lugar de propiedades físicas y químicas del virus ha contribuido a la descripción de tres especies.

1.2.1.1 Diversidad y variabilidad

La amplia diversidad genética de rinovirus humano se refleja en la notable variación de aminoácidos presente en las regiones expuestas de la cápside viral, particularmente en los epítomos inmunogénicos neutralizantes (Nims). La elevada tasa de mutaciones fijadas en estos sitios, especialmente en la proteína VP1, constituye

uno de los principales factores responsables del gran número de genotipos de RV actualmente identificados. Aunque es posible establecer comparaciones y relaciones filogenéticas generales entre los distintos aislados virales, reconstruir con precisión los linajes evolutivos que originaron cada variante resulta casi imposible. Esto se debe a que los árboles filogenéticos generados a partir de secuencias de VP1 suelen diferir considerablemente de los construidos utilizando otras regiones del genoma, como VP2/VP4, 3D, 3C o el IRES, evidenciando la complejidad evolutiva del virus.

Además, trabajos de genómica a gran escala han detectado que, si bien la recombinación en RVh era considerada poco frecuente, existen evidencias crecientes de eventos de recombinación inter-genotípica en genomas completos, lo que sugiere una dinámica evolutiva más compleja de la que se creía anteriormente (Goya et al., 2024; Sun et al., 2025).

La recombinación en los RVh ocurre predominantemente en la región 5' no traducida (UTR), esencial para la replicación y la traducción, y ocasionalmente en regiones no estructurales. Entre las especies de RVh, RVh-A presenta la mayor frecuencia de recombinación. RVh-C participa en recombinación interespecífica esporádica con RVh-A en la UTR 5', lo que contribuye a su variabilidad genética, mientras que RVh-B presenta una actividad de recombinación mínima, con pocos intercambios intergenotípicos documentados (Morelli et al., 2025)

Aun con esto, sigue siendo complejo reconstruir con precisión los linajes que originaron cada genotipo, ya que, analizar distintas regiones del genoma, los árboles filogenéticos no siempre coinciden, lo que sugiere que cada segmento puede reflejar historias evolutivas ligeramente distintas. Además, la considerable variabilidad genética del virus dificulta obtener una línea evolutiva claramente definida.

1.2.2 Taxonomía

El RVh se ha clasificado dentro de la familia Picornaviridae, dentro del género *Enterovirus* al igual que otros virus de relevancia clínica y epidemiológica como enterovirus, coxsackievirus, ecovirus y poliovirus; estos grupos son muy diversos en sus propiedades antigénicas, tropismo tisular, asociaciones de enfermedades y relaciones evolutivas. Lo anterior generó problemas en la nomenclatura de los *Enterovirus*, ya que estas propiedades se empleaban para la clasificación antes de la incorporación de métodos moleculares y de la comprensión de sus interrelaciones genéticas (*Simmonds et al., 2020*).

Las relación genética entre los enterovirus y los rinovirus son estrechas, pero algunos de sus grupos presentan una patogenicidad y comportamientos epidemiológicos distintos, debido a esto, es necesario una asignación nomenclatural clara y simple. Anteriormente los comités de nomenclatura viral para *Enterovirus* permitían la asignación de tipos virales debido a características antigénicas y neutralización cruzada, el resultante de esta nomenclatura se denominaba “serotipo”. Estas mismas establecían umbrales de divergencia entre los tipos virales de hasta un 25% (*Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023*).

La secuenciación de la región VP1 y genomas completos del virus han permitido al diferenciación de 3 especies de RVh: RVh-A, RVh-B y RVh-C, además el establecimiento de umbrales de divergencia para la diferenciación de los subtipos virales clasificados por relaciones genéticas ha denominado los subtipos como “genotipos”. Se han reconocido 169 genotipos, 80 tipos comprenden la especie RVh-A, RVh-B comprende 32 tipos y RVh-C comprende 57 tipos (*Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023*).

La clasificación actual utiliza las regiones VP1/VP2/VP4, a partir de ellas, las comparaciones de las secuencias deben cumplir con al menos un 70% de similitud con otros subtipos dentro de una especie como RVh-A, RVh-B o RVh-C, para asignar

especie. Una similitud superior al 90% en la secuencia de nucleótidos dentro de la región VP2/VP4, o mayor al 87% en la región VP1, para indicar que las dos secuencias de RVh pertenecen al mismo subtipo. Cuando un aislado clínico presenta un porcentaje de identidad menor a estos umbrales, puede sugerir la presencia de un subtipo distinto; sin embargo, esta clasificación solo puede confirmarse tras la secuenciación completa de VP1 y la posterior validación por parte del subcomité del ICTV (Comité internacional de nomenclatura viral 2025) (*Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023; Simmonds et al., 2020*).

1.3 Ciclo replicativo

La replicación del RVh ocurre en el citoplasma y comienza con la entrada viral, durante la cual el virus se une a receptores celulares específicos: ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) para RVh-A RVh-B y CDHR3 (Cadherin Related Family Member 3) exclusivo para Rvh-C es internalizado, facilitando la desencapsidación, producida por el ambiente ácido del endosoma, donde un pH más bajo causa la liberación del genoma viral en el citoplasma (Bochkov & Gern, 2016) y, tal como se esquematiza en la *Figura 3*.

El genoma del ARN viral está unido covalentemente a VPg, una proteína viral que actúa como cebador para la replicación y como facilitador de la traducción. El ARN viral es posteriormente traducido en una única poliproteína (Melia et al., 2019). Este proceso ocurre cuando el virus secuestra los ribosomas de la célula huésped, que se unen al IRES viral en el 5'-UTR para iniciar la traducción de proteínas. La poliproteína es escindida por las proteasas virales 2A, 3C y su forma precursora 3CD en cuatro proteínas estructurales (VP1-VP4) y siete proteínas de replicación no estructurales (2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C y 3D) (Baggen et al., 2018) (Rahajamanana et al., 2025).

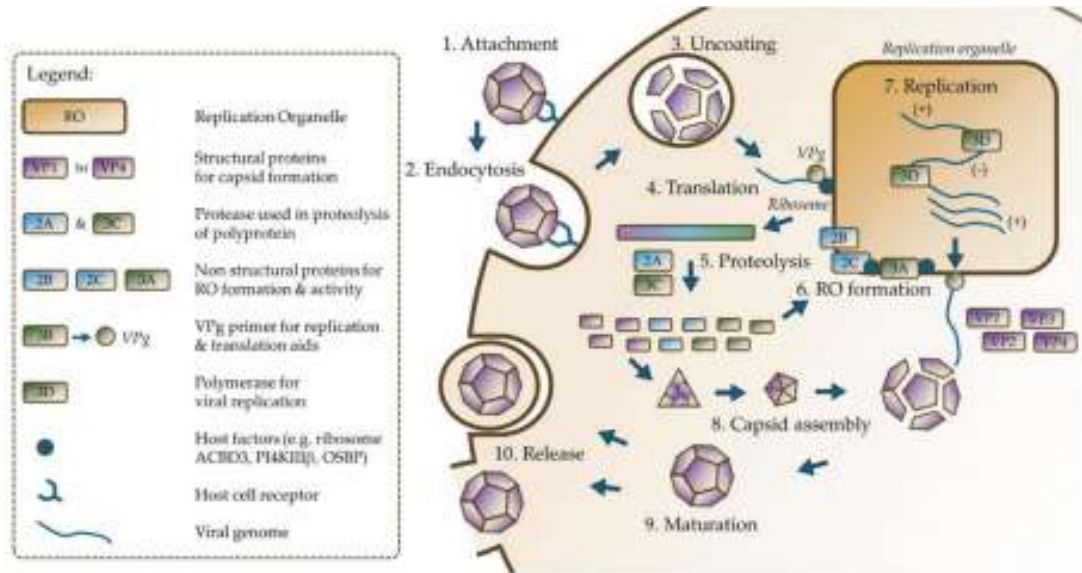


Fig. 3. Ciclo replicativo del género *Enterovirus*. El virus se une a un receptor del huésped (1) y posteriormente se internaliza (2). Un cambio de pH desencadena la pérdida de la envoltura del virus (3), lo que resulta en la liberación de su genoma. Este genoma de ARN se traduce (4) en una sola poliproteína, que sufre proteólisis (5) para producir cuatro proteínas estructurales y siete proteínas no estructurales. Se generan orgánulos de replicación (6), que proporcionan un sitio para la replicación del ARN (7). Los genomas recién replicados se ensamblan con las proteínas estructurales traducidas (8) para formar una partícula viral. Tras la maduración (9), la partícula viral recién formada se libera (10) de la célula huésped. RO = orgánulo de replicación (Rahajamanana et al., 2025) (Melia et al., 2019) (Baggen et al., 2018).

Un aspecto crucial de la replicación de miembros del género *Enterovirus* es la formación de estructuras de membrana especializadas llamadas orgánulos de replicación (OR) (Melia et al., 2019), que se derivan del retículo endoplasmático y el aparato de Golgi, con las proteínas virales 2B, 2C y 3A desempeñando papeles clave en su replicación. La replicación del ARN viral ocurre dentro de estos OR, donde las proteínas virales 2B, 2C y 3A crean un entorno lipídico favorable, con la ayuda de proteínas del huésped como la proteína que contiene el dominio de unión a acil-CoA (ACBD3), el fosfatidilinositol 4-quinasa-IIIβ (PI4KIIIβ), la proteína de unión a oxisterol (OSBP) y la proteína 4 relacionada con OSBP (ORP4) (Li et al., 2020).

La replicación comienza con la transcripción del ARN genómico (+) en ARN (-) por la ARN polimerasa dependiente de ARN (3Dpol), y el ARN (-) sirve entonces como plantilla para la síntesis de nuevo ARN (+) (Baggen et al., 2018). El ciclo de replicación concluye con el ensamblaje del ARN viral recién sintetizado en cápsides formadas por proteínas estructurales (VP1, VP2, VP3 y VP4). Este proceso implica la encapsidación del ARN en proteínas de la cápside. Finalmente, los viriones maduros se liberan de la célula huésped, ya sea por exocitosis, gemación o lisis celular (Rahajamanana et al., 2025).

RVh al igual que los miembros del género *Enterovirus*, cuentan con una alta eficiencia en la capacidad de manipular la maquinaria de la célula huésped, lo que contribuye a la patogenicidad y rápida diseminación de RVh y los miembros del género *Enterovirus*.

1.4 Patogénesis

Las infecciones por rinovirus (RVh) se manifiestan con mayor frecuencia como un cuadro clínico compatible con resfriado común, caracterizado por síntomas como: rinorrea, congestión nasal, odinofagia y tos. No obstante, la infección por RVh no se limita al tracto respiratorio superior; durante las dos últimas décadas se ha documentado que estos virus constituyen una de las principales causas virales asociadas a enfermedad respiratoria aguda grave del tracto respiratorio inferior, capaces de provocar cuadros que requieren hospitalización.

A diferencia de otros virus respiratorios, el RVh no provoca por sí mismo destrucción de las células epiteliales de las vías respiratorias ni genera un efecto citopático evidente. No obstante, aunque la estructura celular parece mantenerse intacta, el virus sí altera la función de la barrera epitelial. Esto ocurre porque, durante su replicación, induce la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales provocan la disociación de la proteína zona ocludens-1 de los complejos de uniones estrechas.

Como resultado, la integridad de la barrera epitelial se ve comprometida y aumenta el paso de microorganismos (incluidas bacterias) a través del epitelio de las vías respiratorias, favoreciendo el desarrollo de cuadros clínicos más complejos. (Royston & Tapparel, 2016).

1.4.1 Transmisión

Las infecciones por RVh se transmiten de persona a persona mediante secreciones respiratorias que contienen el virus, las cuales pueden ingresar al tracto respiratorio de un huésped susceptible. Estas infecciones suelen presentar un período de incubación corto: tras el contacto con el virus, los síntomas generalmente aparecen entre 24 y 72 horas, lo que refleja la rápida replicación viral en el epitelio respiratorio superior. Una vez iniciados los síntomas, el cuadro clínico suele mantenerse entre 5 y 7 días, aunque la eliminación viral puede prolongarse un poco más, especialmente en niños o en personas con enfermedades respiratorias preexistentes (Jacobs et al., 2013). Generalmente, la forma en la que el virus puede propagarse de una persona infectada a otra son las siguientes: por contacto directo con fómites (como superficies contaminadas y otros objetos inanimados), por contacto directo o indirecto entre personas, seguido por la autoinoculación y la exposición directa o inhalación de gotitas respiratorias (aerosoles) las cuales se liberan en actividades hablar, toser o estornudar (Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023). Representados en la *Figura 4*.

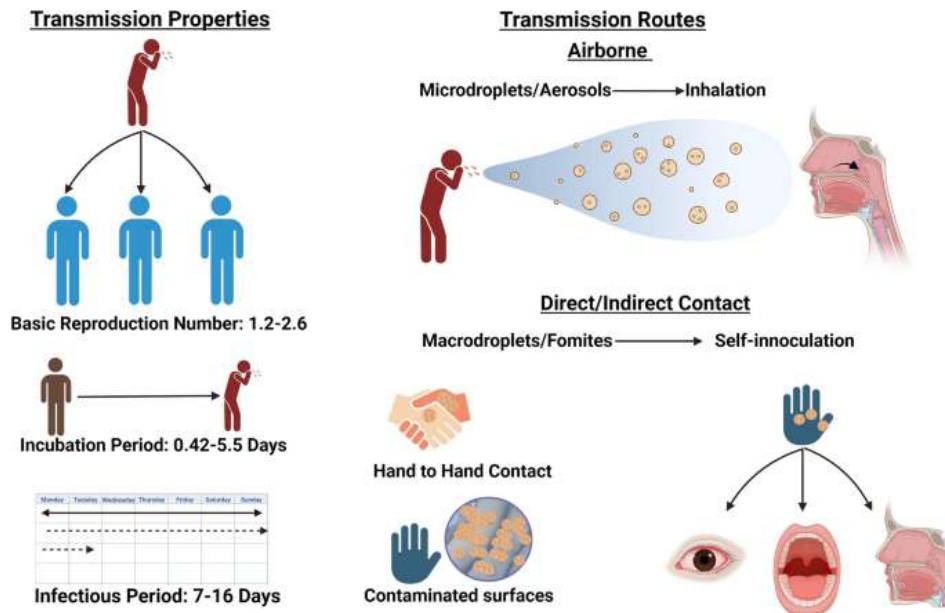


Fig. 4. Descripción general de la transmisión del rinovirus humano (RVh). El RVh es altamente infeccioso y se transmite eficazmente por contacto y vía aérea. Si bien la transmisión por contacto se ha aceptado desde hace tiempo, actualmente parece que la propagación por aerosoles es el método de transmisión predominante. El RVh se transmite eficazmente durante su período de incubación asintomático. (Morelli et al., 2025).

La dinámica de la transmisión de RVh mediante aerosoles puede depender según el tamaño de las gotitas respiratorias. Por ejemplo, los aerosoles grandes, cuya trayectoria en el aire está determinada principalmente por la gravedad, se depositan en las superficies en cuestión de milisegundos, y su infectividad depende de la supervivencia del virus en las superficies y su posterior transmisión a un huésped susceptible. Los aerosoles pequeños pueden permanecer en el aire durante un tiempo prolongado, al menos horas, y transportarse a mayores distancias en interiores, siendo inhalados por un huésped susceptible. (Andrup et al., 2022).

1.4.2 Síntomas

La manifestación clínica de la infección por RVh es variable y está influida por múltiples factores, entre ellos la presencia de comorbilidades, coinfecciones, la edad del paciente, el tipo de rinovirus y el fenotipo asmático (Granados et al., 2016).

Según los estudios clínicos realizados en pacientes con infección confirmada por RVh, no se han observado variaciones significativas en la manifestación clínica que puedan atribuirse a alguna especie en específico. Existen algunos estudios individuales señalan diferencias en la presentación de los síntomas, pero estas no son suficientes para distinguir entre RVh-A, RVh-B y RVh-C V (Arden et al., 2019). Si bien los síntomas no permiten diferenciar entre las especies de RVh, existe evidencia creciente que sugiere que RVh-A y RVh-C no solo son más prevalentes, sino que también se asocian con mayor frecuencia a enfermedad grave. En contraste, RVh-B se detecta con mayor frecuencia en sujetos asintomáticos. (Esneau et al., 2022).

En niños hospitalizados, las infecciones por RVh-C mostraron valores de Ct más bajos en las pruebas de PCRq que las causadas por RVh-A, lo cual refleja una mayor concentración de ARN viral. Esta mayor carga viral se relacionó además con puntuaciones de síntomas más elevadas en los casos atribuibles a RVh-C en comparación con los de RVh-A. No obstante, la carga viral podría no ser el único factor que determine la severidad clínica, dado que otros estudios no han encontrado niveles virales más altos en los casos de infección por RVh que ameritan hospitalización. (Arden et al., 2019; Xiao et al., 2015).

La presentación clínica de las infecciones por rinovirus es variada y abarca desde infecciones leves de las vías respiratorias superiores (IVRS) hasta infecciones más graves de las vías respiratorias inferiores (IVRI).

1.4.2.1 Vías respiratorias superiores

En individuos sin asma, la sintomatología asociada a la infección por rinovirus suele restringirse a las vías respiratorias superiores. La rinorrea y la congestión nasal, los signos más característicos, derivan de una respuesta inflamatoria de neutrofílica, vinculada tanto al aumento de la permeabilidad vascular como a la estimulación de la hipersecreción de moco. La tos, aunque menos frecuente, constituye un síntoma incómodo y puede originarse por la irritación provocada por el drenaje posterior hacia la faringe o por la infección directa de las vías respiratorias principales. Estas infecciones del tracto respiratorio superior podrían describirse más precisamente como rinosinusitis viral. No obstante, la inflamación asociada a la obstrucción de los orificios sinusales y la disfunción secundaria de la trompa de Eustaquio puede favorecer el desarrollo de sinusitis bacteriana aguda y de otitis media, respectivamente. (Kennedy et al., 2012).

Al representar una proporción considerable de IVRS su impacto clínico y socioeconómico es significativo. Por ello, la implementación de sistemas de vigilancia activa resulta cada vez más relevante para cuantificar adecuadamente la carga total de estos virus en la atención sanitaria. Asimismo, la predicción de la incidencia de IVRS mediante técnicas innovadoras, como series temporales de alta dimensión y modelos combinados de predicción, podría optimizar la planificación de los recursos sanitarios (Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023; Lim et al., 2023).

1.4.2.2 Vías respiratorias inferiores

Los síntomas que comprometen las vías respiratorias inferiores durante una infección por rinovirus son más comunes en personas con asma preexistente u otras enfermedades pulmonares crónicas. Entre estas manifestaciones se incluyen la tos, la dificultad respiratoria, la sensación de presión en el pecho y las sibilancias. (Papadopoulos et al., 2000).

En los pocos casos documentados de infección por rinovirus humano en el tracto respiratorio inferior con análisis histológico, se ha observado que el virus puede generar alteraciones tanto intersticiales como alveolares. Los reportes describen hallazgos patológicos como bronquiolitis obliterante con neumonía organizada, inflamación aguda y crónica acompañada de material fibrinopurulento en los alvéolos, así como hiperplasia y descamación de células alveolares (Gutman et al., 2007; Malcolm et al., 2001). En conjunto, estas evidencias experimentales y clínicas respaldan que el RVh es capaz de infectar las vías respiratorias inferiores y desencadenar una respuesta proinflamatoria.

Se ha comprobado que el rinovirus puede infectar tejidos distintos a la nasofaringe y al epitelio de las vías respiratorias inferiores. A través de RT-PCR, se ha detectado ARN viral en los senos paranasales (mediante cepillados del seno maxilar y de células epiteliales de los cornetes en pacientes con sinusitis crónica) así como en la cavidad del oído medio de niños con otitis media con efusión. Se considera que la llegada del virus a estos sitios ocurre por extensión local. Debido a su tropismo teóricamente limitado y a su susceptibilidad al ambiente ácido gastrointestinal, durante mucho tiempo se asumió que el RVh no podía diseminarse mediante viremia ni infectar órganos fuera del tracto respiratorio. No obstante, en años recientes se ha detectado ARN de RVh en diversos compartimentos, incluyendo sangre y heces, lo que revela que aún persisten lagunas en la comprensión de su patogenia. Además, la elevada diversidad de genotipos podría contribuir a esta complejidad, dado que algunos podrían presentar mayor virulencia que otros (Royston & Tapparel, 2016).

1.4.3 Respuesta inmune

1.4.3.1 Respuesta inmune innata

El epitelio de las vías respiratorias, compuesto por células altamente diferenciadas, constituye la principal barrera frente a la infección por rinovirus y actúa como un sistema de defensa particularmente eficaz cuando permanece estructuralmente intacto (Lopez-Souza et al., 2004). Tras la entrada del RVh en este epitelio, la inmunidad innata lo reconoce casi de inmediato, lo que provoca de forma rápida la activación y secreción de interferones tipo I (IFN-1). Estos interferones instauran un estado antiviral tanto en las células inicialmente infectadas como en las que se encuentran en su entorno próximo (Royston & Tapparel, 2016).

En la etapa de unión, la unión de los RVh del grupo principal a ICAM-1 activa una cascada de señalización que conduce a la expresión de genes de quimiocinas, como la quimiocina 1 con motivo C-X-C (CXCL10) (Korpi-Steiner et al., 2006). Una vez que se produce la liberación del genoma viral, las partículas de RVh se liberan y activan las defensas celulares. Las células infectadas reconocen el patrón molecular asociado a patógenos (PAMP) del RVh mediante la interacción con dos familias diferentes de receptores de reconocimiento de patrones: los receptores tipo Toll (TLR) y los receptores tipo RLR (receptor tipo gen I inducible por ácido retinoico), una familia de helicasas de ARN que incluye el gen I inducible por ácido retinoico (RIG-I), el gen 5 asociado a la diferenciación del melanoma (MDA-5) y LGP-2. Los TLR, especialmente TLR-3, 7 y 8, son receptores transmembrana localizados en el lumen de las endosomas que reconocen el ARN bicatenario viral (TLR-3) o el ARN monocatenario (TLR-7 y 8) y participan en la detección del genoma del rinovirus. Además, el TLR-2 se expresa en la superficie celular y es capaz de detectar patrones moleculares específicos en la cápside viral, incluso en ausencia de replicación (Hatchwell et al., 2015; Royston & Tapparel, 2016). Además, el TLR-2 se expresa en la superficie celular y es capaz de detectar patrones moleculares específicos en la cápside viral, incluso

en ausencia de replicación (Hatchwell et al., 2015). Este proceso se detalla en la *Figura 5*.

La activación coordinada de TLR y RLR amplifica la expresión génica de IFN- β e IFN- γ , además de potenciar la producción de citocinas y quimiocinas proinflamatorias inducidas por RVh, incluyendo RANTES, IP-10, IL-6, IL-8 y el péptido activador de neutrófilos ENA-78. Estas moléculas cumplen funciones centrales en el reclutamiento de células efectoras, la modulación del microambiente inflamatorio y la restricción de la replicación viral. En particular, los IFN tipo I y III ejercen efectos antivirales directos, mientras que citocinas como IL-12 e IL-15 promueven la diferenciación y activación de células NK, importantes productoras tempranas de IFN- γ . De forma complementaria, otras citocinas liberadas por el epitelio infectado, como IL-1 β e IL-11, contribuyen a reforzar la respuesta inflamatoria local (Jacobs et al., 2013; Kennedy et al., 2012).

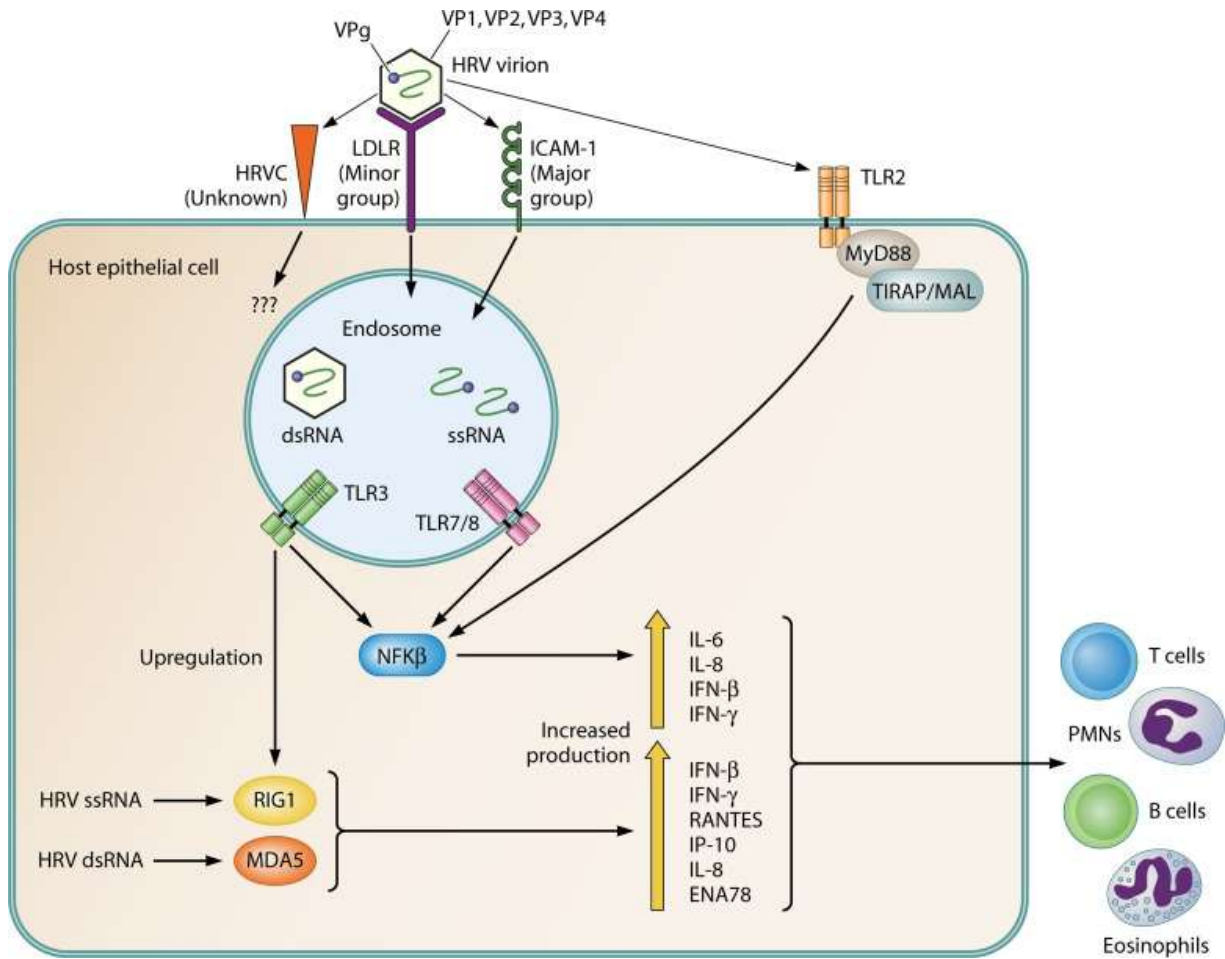


Fig. 5. Reconocimiento del rinovirus humano (RVh) y activación de la respuesta inmune innata en células epiteliales. Los viriones del RVh se unen a ICAM-1 (grupo mayor) o LDLR (grupo menor) para su entrada. Tras internalización, los intermediarios virales de ARN monocatenario y bicatenario son detectados en endosomas por TLR7/8 y TLR3, respectivamente, y en el citoplasma por las helicasas RIG-I y MDA-5. La activación de estos receptores induce señales dependientes de MyD88 o MAVS, con activación subsecuente de NF-κB y la producción aumentada de interferones tipo I y citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-8, IFN-β, IFN-γ, RANTES, IP-10, ENA-78), que reclutan y activan células inmunes innatas y adaptativas. (Jacobs et al., 2013).

1.4.3.2 Respuesta inmune adaptativa

Las respuestas inmunitarias humorales desempeñan un papel clave en la prevención de la infección por RVh. La infección por RVh en personas sin exposición previa genera anticuerpos séricos neutralizantes específicos del serotipo (IgG), además de anticuerpos secretores (IgA) en el tracto respiratorio. En individuos seronegativos infectados de forma experimental con RVh-2, los anticuerpos específicos aparecen entre 1 y 2 semanas después de la infección y sus concentraciones pueden mantenerse elevadas durante uno o varios años. La permanencia de títulos altos de anticuerpos específicos del serotipo se relaciona con protección frente a reinfecciones y con una menor intensidad de los síntomas tras una exposición experimental al mismo serotipo. (Barclay et al., 1989; Message & Johnston, 2003).

Las células T participan en la defensa antiviral al reconocer antígenos derivados del virus, lo que impulsa tanto respuestas citotóxicas como mecanismos mediados por anticuerpos. En el contexto de la infección por RVh, las células endoteliales infectadas producen RANTES e IP-10, moléculas que facilitan la quimiotaxis y el reclutamiento de células T (Wark et al., 2007). La IP-10, una quimiocina sintetizada por células epiteliales bronquiales, monocitos, linfocitos y neutrófilos en respuesta a IFN- γ y TNF- α , ambos incrementados durante la infección por RVh, contribuye significativamente a este proceso. Durante la infección se detecta un aumento de linfocitos y neutrófilos en las secreciones nasales, y tanto en individuos asmáticos como en controles infectados con RVh, las biopsias bronquiales evidencian infiltración de células T en el epitelio y la submucosa de las vías respiratorias (Fraenkel et al., 1995).

Los linfocitos T humanos específicos frente a RVh pueden activarse tanto por epítomos virales particulares de un serotipo como por determinantes antigénicos comunes entre distintos serotipos. Esta capacidad de reactividad cruzada favorece respuestas de linfocitos T más intensas y una mayor liberación de citocinas cuando ocurre una reinfección por variantes serotípicas distintas del RVh. Asimismo, el reclutamiento de

células T contribuye a la depuración viral mediante la secreción de citocinas asociadas al perfil Th1, como IFN- γ e IL-2 (Kelly & Busse, 2008).

1.4.4 Complicaciones/ exacerbaciones

Actualmente, los rinovirus humanos se reconocen como una causa relevante de enfermedades respiratorias, cuyas manifestaciones clínicas pueden resultar no solo severas, sino también más costosas que otras infecciones virales comunes, como la influenza o el virus respiratorio sincitial (VRS). Entre las complicaciones más importantes, los RVh se asocian con la exacerbación de enfermedades respiratorias crónicas, como el asma y EPOC, así como con bronquiolitis crónica y neumonía adquirida en la comunidad (NAC) (Esneau et al., 2022). En este contexto, los RVh se consideran una de las principales causas de infecciones de las vías respiratorias inferiores, junto con el VRS en lactantes y niños, y la influenza en adultos mayores (Ljubin-Sternak & Meštrović, 2023).

En los casos clínicos más graves, se ha demostrado que la infección por RVh puede causar bronquiolitis (Papadopoulos, 2004) y NAC (Walker & Ison, 2014), enfermedades caracterizadas por inflamación pulmonar, tos intensa, fiebre y dificultad respiratoria, frecuentemente acompañadas de sibilancias. Estas sibilancias, especialmente si ocurren de forma recurrente en los primeros años de vida, pueden favorecer el desarrollo de enfermedades respiratorias crónicas como el asma, cuya fisiopatología implica inflamación y estrechamiento de las vías respiratorias, generando disnea, sibilancias y tos persistente (Jackson et al., 2008). Se estima, además, que hasta el 68,5 % de las exacerbaciones asmáticas inducidas por virus en niños están asociadas a infecciones por RVh.

Aunque gran parte de la literatura se ha centrado en población pediátrica, los adultos también pueden presentar desenlaces graves derivados de la infección por RVh. En un estudio reciente, Bahabri et al., evaluaron a 106 adultos hospitalizados con NAC por RVh y observaron que la mayoría presentaba comorbilidades predisponentes,

como hipertensión, diabetes y enfermedad respiratoria crónica. Entre los casos más severos, especialmente en pacientes ingresados en la UCI, se reportaron síntomas como hemoptisis, taquipnea y linfocitosis, lo que resalta el potencial patogénico del virus más allá de la infancia.

Además de su impacto en las vías respiratorias inferiores, los RVh también pueden contribuir a afecciones de las vías respiratorias superiores, como la sinusitis y la rinosinusitis. Un estudio de Basharat et al. (2019) evidenció una mayor prevalencia de RV en pacientes con rinosinusitis crónica, sugiriendo que la infección viral, junto con la respuesta inflamatoria asociada, podría favorecer la exacerbación y progresión de esta enfermedad. Asimismo, los RVh se han vinculado a la otitis media aguda, una de las principales causas de pérdida auditiva en niños de países en desarrollo (Esneau et al., 2022).

En conjunto, el impacto del RVh tanto IVRS como IVRI, así como su papel en la exacerbación de enfermedades respiratorias crónicas, resalta la necesidad de profundizar en la caracterización de la respuesta del huésped frente al viroma. Futuros estudios deberían orientarse a comprender con mayor detalle los mecanismos que subyacen a estas complicaciones, con el objetivo de optimizar estrategias de prevención y manejo clínico.

1.4.4.1 Exacerbaciones de asma y EPOC

Además del resfriado común, las infecciones respiratorias constituyen la principal causa de exacerbaciones tanto de la EPOC como del asma, y representan más atenciones médicas anuales que cualquier otra fuente viral o bacteriana asociada a enfermedades respiratorias (Andrup et al., 2022). Estas complicaciones pueden presentarse incluso en individuos inmunocompetentes, lo que evidencia la amplitud del impacto clínico de estos virus.

Las exacerbaciones asmáticas implican un empeoramiento agudo de los síntomas y una disminución de la función pulmonar, y con frecuencia conducen a visitas a

urgencias, hospitalizaciones e incluso mortalidad. Investigaciones recientes han identificado diferencias inmunológicas relacionadas con la edad en la respuesta de anticuerpos específicos contra RVh y su relación con el riesgo y la severidad del asma. Se ha observado que la asociación entre los niveles de IgG específica contra rinovirus y el desarrollo de asma varía a lo largo de la vida. En niños, concentraciones elevadas de IgG dirigida a RVh-A y RVh-C se han vinculado con un mayor riesgo y gravedad del asma, posiblemente como reflejo de infecciones repetidas y respuestas inmunitarias más intensas. En contraste, en adultos, niveles reducidos de IgG frente a RVh-A, RVh-B y RVh-C se han asociado con la presencia de asma, lo que podría indicar una menor exposición viral con el paso del tiempo o un debilitamiento de la respuesta inmunitaria. Estos resultados sugieren que las vías inmunológicas que contribuyen al desarrollo del asma cambian con la edad: en la infancia, niveles altos de IgG específica para RVh reflejan exposición viral recurrente y activación inmune, mientras que, en la edad adulta, niveles bajos podrían corresponder a una menor estimulación antigénica o a una inmunidad sostenida frente a RVh (Mauclin et al., 2024).

Por su parte, las infecciones por RVh también se identifican con frecuencia durante las exacerbaciones de la EPOC, y aunque su papel como desencadenantes ha sido discutido, la evidencia experimental reciente ha confirmado una relación causal entre la infección viral y la agudización de la enfermedad. Estas exacerbaciones representan una causa importante de morbilidad y mortalidad, y los rinovirus y los virus de la influenza figuran entre los agentes detectados con mayor frecuencia.

Los estudios de infección experimental con RVh han sido decisivos para demostrar su capacidad de inducir exacerbaciones en pacientes con EPOC. Sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos aún no se comprenden por completo. Se ha propuesto que una respuesta deficiente de interferones favorece cargas virales más altas y una inflamación aumentada, contribuyendo al desarrollo de exacerbaciones inducidas por virus. (Cafferkey et al., 2020)

1.5 Coinfecciones

La coinfección entre RVh y otros patógenos virales o bacterianos se ha convertido en un aspecto clínico de creciente interés, debido a su influencia en la severidad, progresión y desenlace de las infecciones respiratorias. Aunque en población pediátrica las coinfecciones virales son relativamente frecuentes, en adultos su presencia es mucho menos habitual, con tasas estimadas entre 1% y 5% (Morelli et al., 2025).

En cuanto a coinfecciones bacterianas, los reportes varían considerablemente entre estudios. Bahabri et al. (2022) describieron una prevalencia baja de coinfecciones bacterianas (6,6%) y de superinfecciones (3,8%). No obstante, en un hospital de Alemania, Golke et al. (2021) observaron que el 21% de los casos positivos para RVh presentaron coinfección, siendo la coinfección bacteriana la más frecuente (71%).

Entre los co-patógenos identificados se encontraron *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Este trabajo evidenció, además, que la presencia simultánea de bacterias y RVh se relaciona con complicaciones de mayor gravedad, como infecciones del tracto respiratorio inferior, neumonía, estancias hospitalarias prolongadas y mayor probabilidad de ingreso a la UCI (Golke et al., 2021).

Resultados similares fueron reportados en Túnez, donde el 28% de las muestras positivas para RVh presentaron coinfección con otro virus o bacteria. Las coinfecciones virales representaron un 8,7%, principalmente con virus sincitial respiratorio, bocavirus y parainfluenza, mientras que las coinfecciones bacterianas alcanzaron el 17,5%, involucrando agentes como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Bordetella pertussis*. Incluso se detectó un caso con coinfección viral y bacteriana simultánea. De manera destacable, este estudio mostró que la coinfección bacteriana se asoció de manera significativa con desenlaces clínicos severos, incluyendo necesidad de intubación (Haddad-Boubaker et al., 2021).

La interacción del RVh con otros virus respiratorios que circulan de forma simultánea también puede modificar la dinámica epidemiológica a nivel individual y poblacional. Estudios experimentales han demostrado que la replicación del SARS-CoV-2 puede verse inhibida por una infección previa por RVh, mientras que la presencia de SARS-CoV-2 no parece afectar la replicación del rinovirus (Essaidi-Laziosi et al., 2021).

Finalmente, se ha descrito un impacto clínico particular en pacientes con enfermedades respiratorias crónicas. Wilkinson et al. (2017) observaron que las infecciones por RVh contribuyen a los picos estacionales de exacerbaciones de la EPOC y que los pacientes previamente colonizados por *Haemophilus influenzae* pueden ser especialmente susceptibles a las exacerbaciones desencadenadas por RVh.

1.6 Epidemiología molecular de RVh

La epidemiología molecular global de los RVh se basa en la asociación filogenética de la secuencia genética VP1, que clasifica las especies de RVh.

A diferencia de virus estacionales como la influenza, el RVh circulan todo el año, aunque en climas templados muestran picos en primavera y otoño, mientras que en regiones tropicales mantienen una prevalencia anual estable (Berginc et al., 2024) (Morelli et al., 2025). Su completa distribución global y una alta diversidad genética con 169 genotipos, complican las estrategias de control epidemiológico (Esneau et al., 2022)

El impacto clínico de las infecciones por RVh no se limita únicamente al resfriado común (Giardina et al., 2022), existe una coinfección con otros virus, Pinky y Dobrovolny (2016) han descubierto que el RVh, que además que cuenta con una tasa de replicación acelerada, reduce la replicación de los virus restantes

durante una coinfección, lo que evidencia una relación entre los virus durante una infección del tracto respiratorio, también Kong et al. (2021) han descubierto la coinfección por RVh con otros virus respiratorios como el VRS (virus respiratorio sincitial), el adenovirus (AdV), el coronavirus (hCoV) y los virus parainfluenza (hPIV) es frecuente.

Diversos estudios internacionales han evidenciado diferencias en la prevalencia de las especies de rinovirus humano (RVh), siendo las especies A y C las más comúnmente detectadas. En Túnez, el análisis genético reveló un predominio claro de RVh-A (63,3 %), seguido de RVh-C (30,6 %) y RVh-B (6,1 %), el genotipo más frecuente fue A101, otros genotipos encontrados fueron A12, A78, A32 y A89 (Haddad-Boubaker et al., 2021). De forma similar, en China se identificó a RVh-A como la especie más prevalente (42 %), aunque con una distribución más equilibrada respecto a RVh-B (36 %) y RVh-C (22 %), identificando genotipos como A20, B27, B70 como predominantes en sus respectivas especies. C2 tuvo la proporción más alta en RVh-C (47.83%, 11/23). (Gao et al., 2024). Por otro lado, un estudio multicéntrico realizado por Hasegawa et al. (2018) en niños hospitalizados por bronquiolitis en Estados Unidos y Finlandia reportó que RVh-A y RVh-C fueron predominantes en Estados Unidos, mientras que en Finlandia prevaleció RVh-C.

En Bulgaria, Georgieva et al. (2023) encontraron que RVh-A fue más frecuente en los años previos a la pandemia de COVID-19, mientras que RVh-C se volvió predominante en el período posterior. En conjunto, estos estudios sugieren que RVh-A y RVh-C son las especies más prevalentes a nivel mundial, con variaciones regionales y temporales en su circulación.

Da Costa Souza et al. (2021) en Brasilia- Brasil, informan sobre el predominio de RVh en pacientes que dieron negativo en la vigilancia de otros virus respiratorios como el virus de la gripe, siendo los niños menores de 2 años y provenientes de áreas rurales los casos con mayor probabilidad de presentar IRA. Ellos reportan la circulación de las

3 especies de RVh (A,B,C) siendo RVh-A la especie predominante en este estudio seguido de RVh- C y por último RVh-B.

Un estudio retrospectivo realizado en China demostró la alta diversidad genética observada en RVh. En un total de 462 pacientes infectados con RVh y que presentaban IRA, identificaron 105 genotipos distribuidos en las especies RVh-A (68,8%), RVh-C (19,5%) y RVh-B (11,7%). El genotipo más común identificado fue A29 seguido por A101 y A47. Notablemente, incluso el genotipo más prevalente A29 se encontró en solo 12 casos, lo que indica la ausencia de un genotipo predominante en las infecciones con RVh. Esto distingue al RVh de otros virus respiratorios como el virus respiratorio sincitial (VSR), el Enterovirus (EV) y la gripe (Wang et al., 2024).

En Panamá, el ICGES opera el Sistema de Vigilancia Nacional para Influenza y otros virus respiratorios, el cual detecta RVh mediante métodos moleculares en muestras nasofaríngeas de 14 regiones de salud. Los datos de vigilancia indican que, entre 2011 y 2016, el RVh circuló de forma continua durante todo el año y fue el segundo virus más frecuente, después del VRS, en niños menores de 5 años. Estos datos coinciden con lo descrito por Kenmoe et al. (2020) quienes evaluaron la prevalencia en niños menores de dos años con bronquiolitis, recopilando datos de dos décadas previas a la pandemia de COVID-19. La revisión incluyó estudios observacionales que reportaron tasas de detección molecular de RV y otros virus respiratorios en esta población. El RV se identificó como el segundo virus más frecuente después del VRS, con una prevalencia combinada del 19,29 % (IC 95 %: 16,67-22,04 %), observándose además un 7,1 % (IC 95 %: 4,6-9,9 %) de coinfecciones simultáneas de VRS y RVh.

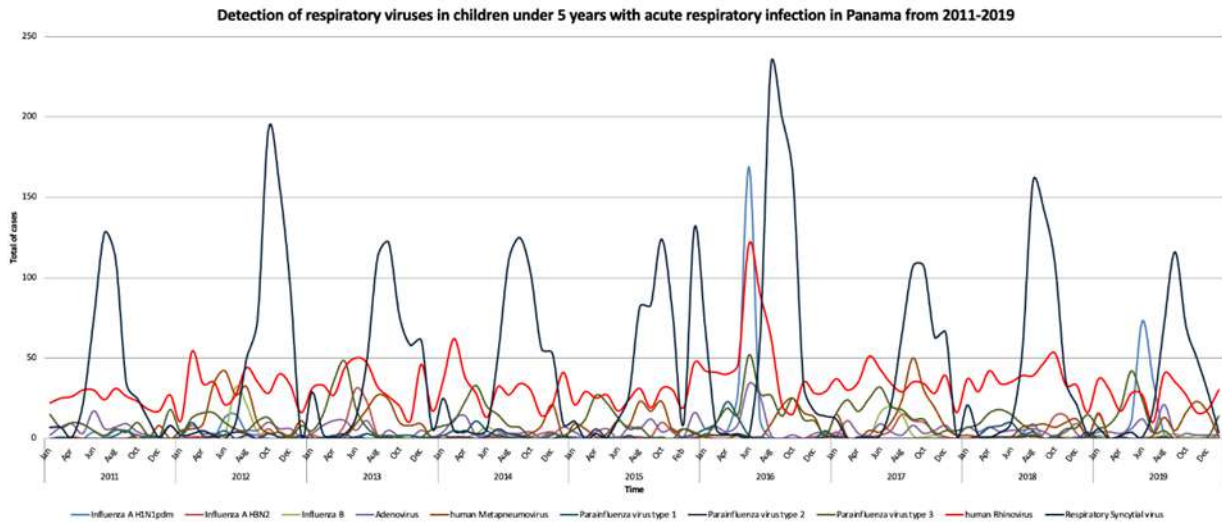


Fig. 6. *Detección de virus respiratorios en niños menores de 5 años con IRA en Panamá desde el 2011-2019. La circulación de RVh se presenta en color rojo. (Datos de Menores de 5 Años del Sistema de Vigilancia Nacional Para Influenza y Otros Virus Respiratorios Entre los Años 2011-2019).*

En el caso específico de RVh, existe un reporte realizado durante los años 2010-2011, donde identificaron RVh de las especies A, B y C con un predominio de RVh-A (60%, n = 37) con un significativo recuento entre los genotipos A-24, A71, A-12 y A-40, seguido de la RVh-C con (32%, n = 20) pero con bajo recuento entre los genotipos y por último la especie RVh-B (8%, n = 5) y 4 genotipos reportados, demostrando así una marcada diversidad genética dentro de cada especie (Franco et al., 2012).

CAPÍTULO II

2. Marco metodológico

2.1 Tipo de estudio

Esta investigación es de carácter analítico, y retrospectivo, observacional.

2.2 Selección de las muestras:

Se utilizaron muestras de hisopados nasofaríngeos provenientes del Programa de Vigilancia Epidemiológica para Influenza y otros virus respiratorios, con resultados positivos para RVh detectados durante los años 2011-2016 en Panamá. Estas muestras correspondieron a pacientes de todas las edades; sin embargo, la mayoría pertenecían a pacientes pediátricos menores a cinco años. Se seleccionaron 100 muestras por año de estudio (2011-2016), extraídas de la base de datos de casos positivos para RVh durante el período mencionado, las cuales fueron seleccionadas de manera completamente aleatoria. Este trabajo se enmarcó en el protocolo aprobado por el Comité de Bioética de la Investigación del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (CBI-ICGES), vigente, titulado “Protocolo de Investigación para el Fortalecimiento en la Vigilancia Epidemiológica de influenza y otros virus respiratorios en Panamá”. Se otorgó una exención específica de este protocolo para la realización de este proyecto.

2.3 Extracción

El ARN se extrajo a partir de las muestras de hisopados nasofaríngeos utilizando el equipo automatizado *KingFisher Flex System* (Thermo Fisher Scientific), de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Se utilizó el kit comercial de extracción *MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit*, conforme a las indicaciones dadas por el fabricante. Este kit de extracción incluía los siguientes reactivos: *Wash Solution*, *Etanol 80%*, *Elution Solution* y el *Binding Mix*.

El proceso de extracción se realizó en platos de 96 pocillos para cada reactivo y se añadió en las siguientes cantidades: 500 µL del *Wash Solution*, 500 µL de etanol 80%.

50 µL de Elution Solution y 280 µL del Binding Mix. En el plato del Binding Mix se agregó 200 µL de muestra. Los platos correspondientes al Wash Solution (Wash 1), el del Etanol 80% (Wash 2), el del Elution Solution y la mezcla de Binding Mix con la muestra fueron colocados en el *KingFisher Flex System* para llevar a cabo el proceso de extracción.

2.4 Amplificación del material genético

La amplificación se llevó a cabo mediante transcripción inversa seguida por una PCR (RT-PCR) dirigida a la región 5'UTR y a las regiones parciales de VP4/VP2. Los cebadores utilizados se basaron en el artículo de referencia de Malekshahi et al. (2022), cuyos nombres son HRV_For (5'- GGGACCAACTACTTTGGGTGTCCGTGT-3') y HRV_Rev (5'-GCATCIGGYARYTTCCACCACCAN-3'), amplificando un fragmento de aproximadamente 549 nucleótidos. Las características generales de los cebadores empleados se resumen en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Cebadores utilizados para la amplificación del fragmento VP4/VP2 del RVh

	Nombre	Región	Secuencia nucleotídica	Prueba
<i>FORDWARD</i>	HRV_For	VP2- VP4	5'- GGGACCAACTACTTTGGGTGTCCGTGT-3'	RT-PCR
<i>REVERSE</i>	HRV_Rev	VP2- VP4	5'-GCATCIGGYARYTTCCACCACCAN-3'	RT-PCR

La reacción se realizó utilizando el kit *AgPath ID™ One-Step RT-PCR* en una mezcla de reacción total de 25 µl, que contenía 5 µl de ARN, 1 µl de *25x RT-PCR Enzyme (Applied Biosystems Thermo Fisher Scientific)*, 12.5 µl de *2x RT-PCR Buffer*, 0.5 µl del cebador HRV_For a 10 µM, 0.5 µl de, cebador HRV_Rev 10 µM y 5.5 µl de H₂O.

El proceso de amplificación se llevó a cabo en un termociclador *SimpliAmp*[™] de la marca *Applied Biosystems*[™], utilizando el kit *AgPath-ID*[™] *One-Step RT-PCR*.

Las condiciones de ciclado incluyeron una etapa de retrotranscripción, activación de la enzima Taq polimerasa y amplificación por ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión. Los parámetros específicos de temperatura y tiempo empleados en cada etapa se detallan en la **Tabla 2**. Los productos amplificados fueron almacenados a -20 °C hasta su procesamiento mediante electroforesis.

Tabla 2. Condiciones de ciclado utilizadas en la reacción de RT-PCR para RVh.

<i>Etapa</i>	<i>temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>ciclos</i>
<i>RT</i>	45 °C	30 min	1x
<i>Activación de Taq polimerasa</i>	94 °C	2 min	1x
<i>Desnaturalización</i>	94 °C	15 s	45x
<i>Alineamiento</i>	58 °C	30 s	45x
<i>Extensión</i>	68 °C	1 min	45x
<i>Extensión final</i>	68 °C	5 min	1x
<i>mantenimiento</i>	4 °C	∞	

2.5 Electroforesis

Luego de la amplificación se realizó la electroforesis, la cual es una técnica que consiste en separar sustancias como proteínas y ácidos nucleicos mediante el uso de corriente eléctrica. De acuerdo con el tamaño y la carga eléctrica (positiva o negativa) de la sustancia, se determinó cuán lejos se desplazó. El proceso se describe a continuación:

Se preparó un gel de agarosa al 2 %, para el cual se utilizaron 2 g de agarosa en 100 mL de solución TBE (Tris-Borato-EDTA 0.5x). Esta mezcla se calentó hasta su completa homogeneización. Luego, se añadió 2 µL de bromuro de etidio, que permitió

visualizar las bandas bajo luz ultravioleta (UV). Luego, se vertió el gel en un molde con unos peines y se dejó solidificar.

Una vez solidificado, se cargaron las muestras en los pocillos formados por los peines. Para cada muestra, se utilizaron 3 μL de producto con 2 μL de *loading buffer* homogeneizado con una micropipeta y se sirvieron las muestras en cada pocillo. En los pocillos inicial y final se añadió 1.5 μL del marcador de peso molecular (1kb) que sirvió de referencia para el tamaño de los fragmentos.

Se conectaron los electrodos de la cámara y se corrió la electroforesis a 105 voltios por 30 a 45 min. Al encender el sistema, el ARN por su carga negativa migró hacia el electrodo positivo.

Una vez culminada la electroforesis, se transfirió el gel al fotodocumentador *ChemiDoc Imaging System*, donde se capturaron las imágenes de las bandas generadas durante la electroforesis.

2.6 Purificación del producto amplificado

Con las muestras amplificadas se utilizó el *QIAquick® PCR Purification Kit* para purificar los productos de PCR antes de realizar la reacción de secuenciación. A cada volumen de reacción de PCR (15 μL) se le añadieron cinco volúmenes de *Buffer PB* (75 μL) y la mezcla se homogeneizó utilizando un vortex BenchMixer™ Vortexer mixer. La mezcla resultante se aplicó sobre una columna *QIAquick* colocada en un tubo de recolección de 2 ml, y se centrifugó durante 60 segundos a 13000 rpm. El eluido fue descartado y la columna se colocó nuevamente en el mismo tubo de recolección.

Posteriormente, se realizó un lavado de la columna con 750 μL de *Buffer PE*, seguido de centrifugación por 60 segundos a 1300 rpm. El flujo se descartó y se efectuó una centrifugación adicional por 1 minuto para eliminar los residuos del tampón de lavado.

Finalmente, la columna fue transferida a un tubo *Eppendorf* de 1.5 ml estéril. La elución del ADN se llevó a cabo mediante la adición de 10 µl de agua tratada con DEPC directamente en el centro de la membrana, seguida de una centrifugación de 1 minuto a 1300 rpm.

Los productos purificados se analizaron mediante electroforesis en gel, añadiendo 1 µl de buffer de carga (*Loading Dye*) por cada 3 volúmenes de ADN purificado.

2.7 Reacción de secuenciación

Para la secuenciación de las hebras del ADNc (ácido desoxiribonucleico complementario) se utilizó el kit *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing*, empleando los mismos cebadores HRV_For y HRV_Rev que se utilizaron en la RT-PCR.

Para la reacción de secuenciación del ADNc, se preparó un mix con los siguientes reactivos: 1 µL de *Big Dye Terminator v3.1 Ready Reaction Mix*, 3.5 µL de *BigDye Terminator Sequencing Buffer*, 1 µL del primer correspondiente (ya sea reverse o forward) a una concentración de 3,2 mM y 1,5 µL de agua tratada con DEPC. Para completar el volumen final de 10 µL, se añadieron 3 µL para las muestras que hayan mostrado banda débil en la electroforesis, 2 µL a las tenues y 1 µL a las fuertes. Posteriormente, las muestras fueron colocadas en el termociclador *SimpliAmp™ (Applied Biosystems™)* bajo las condiciones especificadas en el protocolo del kit *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit*. Las etapas de desnaturalización, alineación y extensión se llevaron a cabo según los parámetros de temperatura y tiempo que se detallan en la **Tabla 3**. Al finalizar la reacción, el amplicón se conservó a 4 °C hasta su retiro del termociclador.

Tabla 3. Parámetros de temperatura y tiempo empleados en la reacción de secuenciación.

<i>Etapas</i>	<i>temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>ciclos</i>
<i>Incubación</i>	96 °C	3 min	1x
<i>Desnaturalización</i>	96 °C	15 s	45x
<i>Alineamiento</i>	58 °C	20 s	45x
<i>Extensión</i>	60 °C	4 min	45x
<i>Mantenimiento</i>	4 °C	∞	

2.8 Purificación de la reacción de secuenciación

Para la purificación del producto de reacción de secuenciación, se empleó el *BigDye XTerminator Purification Kit*. Añadimos un volumen total de 55 μL de una mezcla, compuesta por 45 μL de *SAM Solution* y 10 μL de BigDye XTerminator, a cada pocillo que contenía 10 μL de la muestra de reacción de secuenciación. Luego, se agitó el plato con un vórtex durante 30 minutos.

Posteriormente, se preparó un plato adicional de 96 pocillos con 65 μL de agua en cada uno para equilibrar en la centrifuga. Ambos platos los llevamos a centrifugar a 1000 $\text{xg} \approx \text{RCF}$ durante 2 minutos. Una vez purificado el producto, se colocó el plato de secuenciación al secuenciador Sanger (ABI 3500xl).

2.9 Análisis de Secuencias

Las secuencias obtenidas fueron editadas y revisadas utilizando el software Sequencher 5.4.5. Se realizó una comparación de las secuencias de ADN obtenidas utilizando la herramienta BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool – nucleotides). Con los resultados, se asignó un genotipo tentativo a cada muestra secuenciada y, con base en este genotipo, se buscaron secuencias de referencia correspondientes en la base de datos GenBank. Posteriormente, la relación entre las cepas secuenciadas y las secuencias de referencia fue evaluada mediante análisis y alineamiento múltiple de secuencias utilizando el software MEGA versión 12.

Finalmente, se construyeron árboles filogenéticos para visualizar la relación evolutiva entre las cepas locales y las de referencia. Estos árboles fueron generados en MEGA v12, empleando métodos como Máxima Verosimilitud y Distancia Genética, con el fin de obtener un análisis robusto y detallado de la diversidad genética del rinovirus humano.

2.10 Análisis de la diversidad genotípica de los resultados

Se compararon los genotipos obtenidos en este estudio con los reportes publicados a nivel mundial y con los genotipos descritos en el estudio realizado durante 2010–2011 por Franco et al. (2012).

Se emplearon 62 secuencias de referencias obtenidas del GenBank, estas referencias provenían de una cuidadosa revisión literaria, en donde se obtuvieron los códigos del banco de genes y a partir de ellos, se extrajeron las secuencias en formato para su alineación con las secuencias de este estudio y así evaluar las similitudes genotípicas. Adicionalmente, se analizó la distribución geográfica de los genotipos identificados en el país y se evaluó su asociación con diversas variables epidemiológicas de los pacientes de los cuales se obtuvieron las muestras, incluyendo el año de diagnóstico, la región de procedencia y el grupo etario. Esta aproximación permitió contextualizar los hallazgos locales dentro del panorama global y aportar información relevante sobre la dinámica epidemiológica del rinovirus humano en la población estudiada.

CAPÍTULO III

3. Resultados

3.1 Fragmento amplificado

Se amplificó un fragmento de 549 bp utilizando los cebadores indicados en la tabla 1 mediante el kit AgPath-ID™ One Step RT PCR. Para verificar el tamaño del fragmento amplificado, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2% utilizando bromuro de etidio como agente intercalante. Observamos el gel con el equipo ChemiDoc Imaging System y confirmamos el amplicon de 549 bp, ver **Figura 7**.

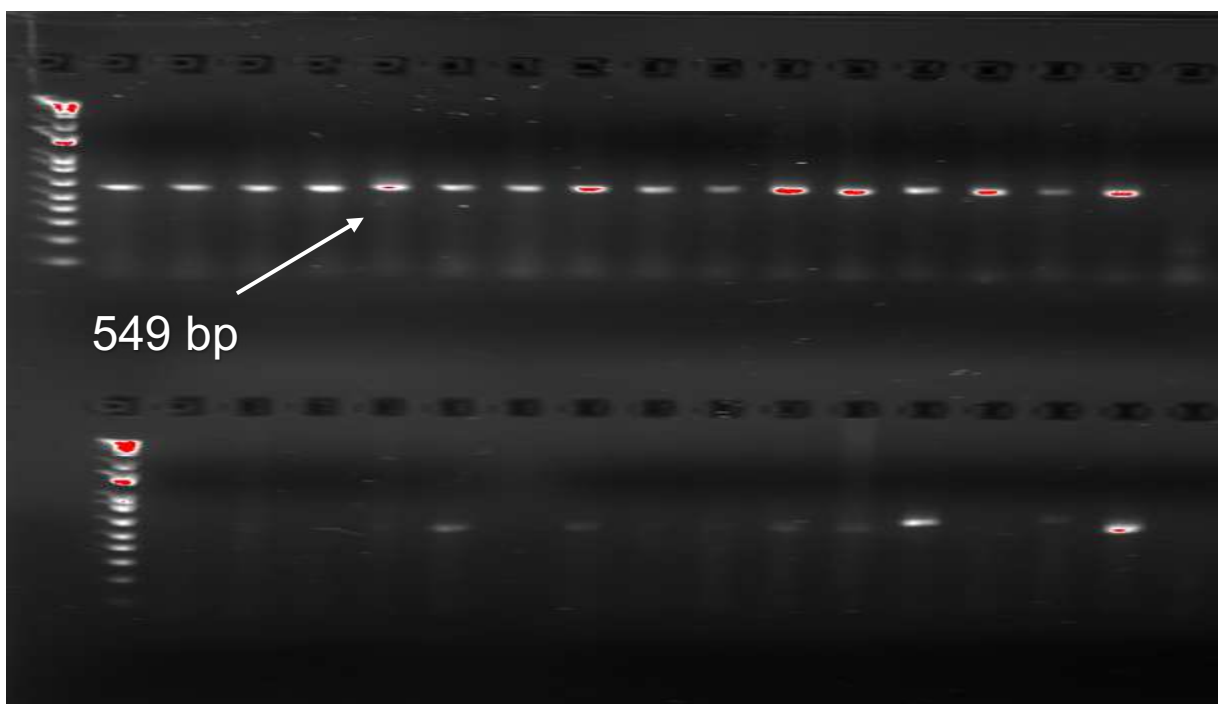


Fig.7. Electroforesis de fragmentos de ADN 549bp en un gel de agarosa al 2%, se observa el marcador de peso molecular de 100 bp. Posterior a estos resultados elegimos los mejores amplicones para su purificación y secuenciación.

3.2 Secuencias obtenidas

Tabla 4. Resultados obtenidos de la secuenciación de muestras positivas de RVh provenientes del programa de Vigilancia Nacional para Influenza y otros virus respiratorios, detectados durante los años 2011-2016 en Panamá.

Año	Código	nombre	Condición clínica	Genotipo
2011	308606	PAN001-RVh-2011	-	C22
	308881	PAN002-RVh-2011	Ambulatorio	A10
	309896	PAN003-RVh-2011	Hospitalizado	C6
2012	310067	PAN004-RVh-2012	Hospitalizado	A82
	310078	PAN005-RVh-2012	Hospitalizado	C35
	310316	PAN006-RVh-2012	Hospitalizado	A7
	310347	PAN007-RVh-2012	Hospitalizado	C50
	310459	PAN008-RVh-2012	Ambulatorio	A15
	312172	PAN009-RVh-2012	Hospitalizado	A10
2013	312452	PAN010-RVh-2013	-	C17
	312470	PAN011-RVh-2013	-	A101
	312560	PAN012-RVh-2013	Hospitalizado	A49
	312589	PAN013-RVh-2013	Hospitalizado	A49
	312768	PAN014-RVh-2013	-	A15
	312795	PAN015-RVh-2013	Hospitalizado	B42
	313049	PAN016-RVh-2013	Hospitalizado	C5
	313479	PAN017-RVh-2013	Hospitalizado	A12
	314023	PAN018-RVh-2013	Hospitalizado	A12
	314161	PAN019-RVh-2013	Hospitalizado	A18
	314206	PAN020-RVh-2013	Hospitalizado	A21
2014	314465	PAN021-RVh-2014	Hospitalizado	A55
	314501	PAN022-RVh-2014	Hospitalizado	A12
	314634	PAN023-RVh-2014	Hospitalizado	C15
	314655	PAN024-RVh-2014	Hospitalizado	C43
	314673	PAN025-RVh-2014	Hospitalizado	A51
	314684	PAN026-RVh-2014	Hospitalizado	A47
	314897	PAN028-RVh-2014	Hospitalizado	C16
	2015	316153	PAN033-RVh-2015	Hospitalizado
316420		PAN034-RVh-2015	Hospitalizado	A24
316452		PAN035-RVh-2015	Hospitalizado	C17
316574		PAN036-RVh-2015	Hospitalizado	A12
316709		PAN037-RVh-2015	Hospitalizado	A29
316760		PAN038-RVh-2015	Hospitalizado	C6
317144		PAN039-RVh-2015	Hospitalizado	C6
317170		PAN040-RVh-2015	Hospitalizado	C28
317374		PAN041-RVh-2015	Hospitalizado	C51

2016	317958	PAN042-RVh-2016	Hospitalizado	A12
	318031	PAN043-RVh-2016	Hospitalizado	A11
	318551	PAN045-RVh-2016	Ambulatorio	B84
	319780	PAN046-RVh-2016	Hospitalizado	C22
	319811	PAN047-RVh-2016	Hospitalizado	A85
	319899	PAN048-RVh-2016	-	A12
	320422	PAN049-RVh-2016	Ambulatorio	C47
	321521	PAN050-RVh-2016	Hospitalizado	C15
	321589	PAN051-RVh-2016	Hospitalizado	C6
	321727	PAN052-RVh-2016	Hospitalizado	C6

El análisis de las muestras positivas para RVh, permitió obtener 46 secuencias genéticas de entre 450-549 nucleótidos. La revisión de los datos epidemiológicos de cada muestra nos permitió evaluar las regiones de procedencia de las muestras, así como año, edades, sexo, coinfecciones y estado clínico que se detallan a continuación.

Las secuencias caracterizadas se alinearon con las secuencias de referencia, permitiendo la agrupación de 31 genotipos distintos: A7, A10, A11, A12, A15, A18, A21, A24, A47, A49, A51, A54, A55, A85, A101, A82, A28, A29, C5, C6, C15, C16, C17, C22, C28, C35, C43, C47, C50, B42, B84. La región utilizada para la clasificación de los genotipos fue la región VP2/VP4 (**Fig. 2**), con esta región y las comparaciones del BlastN logramos clasificar 25 secuencias para *Enterovirus alfarhino* representando la especie con mayor número de secuencias en este estudio con un 54.34%, en un orden descendente tenemos 19 muestras con tendencia a agruparse como *Enterovirus cerhino*, estas representan un 41.31% de las muestras totales y 2 muestras clasificadas como *Enterovirus Betarhino* con un 4.35%, siendo esta las menos frecuentes en este estudio.

De estas secuencias, la mayoría de los casos correspondieron a pacientes hospitalizados (38/46), mientras que los ambulatorios fueron menos frecuentes. La detección de coinfecciones virales fue baja, predominando los casos sin coinfección (40/46); entre las coinfecciones identificadas, las más registradas fueron con PIV-1. En cuanto al grupo etario, la mayor proporción de casos se observó en niños menores de 2 años, especialmente en los rangos de 1–3 meses y 9 meses – 1 año, manteniéndose

esta tendencia a lo largo de los años evaluados. Estos datos se encuentran detallados en la **tabla 5**.

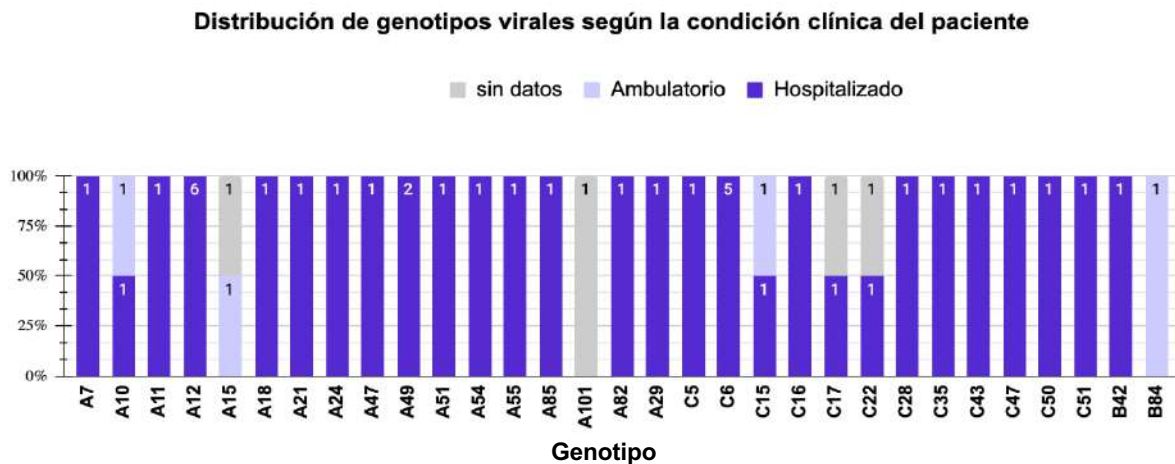
El análisis comparativo entre las secuencias indicó que la mayor diversidad de genotipos se encontró en RVh-A12 con un 13.04% y RVh-C6 con 10.87%, el 100% de estos genotipos dominantes correspondían a pacientes con cuadros clínicos de IRA (ver **gráfica 1**).

Tabla 5. Características epidemiológicas y clínicas de las secuencias analizadas por año (2011-2016).

Características	Características epidemiológicas y clínicas de las secuencias analizadas por año (2011-2016)																					Total			
	2011			2012			2013			2014			2015			2016									
	Especie			Especie			Especie			Especie			Especie			Especie									
No. de secuencias	A	B	C	Total	A	B	C	Total	A	B	C	Total	A	B	C	Total	A	B	C	Total					
Estado clínico	1	0	2	3	4	0	2	6	8	1	2	11	4	0	3	7	4	0	5	9	4	1	6	10	46
Hospitalizado	0	0	1	1	3	0	2	5	6	1	1	8	4	0	3	7	4	0	5	9	4	0	4	8	38
Ambulatorio	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	4
Sin datos	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Coinfección																									
Hmpv	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
PIV-1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
PIV-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
RSV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
ADV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
Sin coinfección	1	1	1	3	3	0	2	5	7	1	2	10	4	0	2	6	3	0	3	6	4	1	5	10	40
Grupo etario																									
< 1 mes	0	0	0	0	1	0	1	2	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	2	1	0	0	1	7
1-3 meses	0	0	1	1	2	0	0	2	3	0	2	5	0	0	1	1	2	0	0	2	0	0	0	0	11
4-8 meses	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	4	0	0	1	1	1	0	2	3	1	0	0	1	9
9 meses -1 año	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	2	0	1	3	0	0	2	2	1	0	2	3	11
2-6 años	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1
> 6 años	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	5	6
Sin datos	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

3.3 Genotipos según la condición clínica

En la gráfica presentada se observa que 38/46 de los genotipos identificados se asociaron a casos de hospitalización lo que equivale a un 82.6%, mientras que solo 4/46 (8.7%) corresponden a pacientes ambulatorios y 4/46 carecían de información clínica disponible.

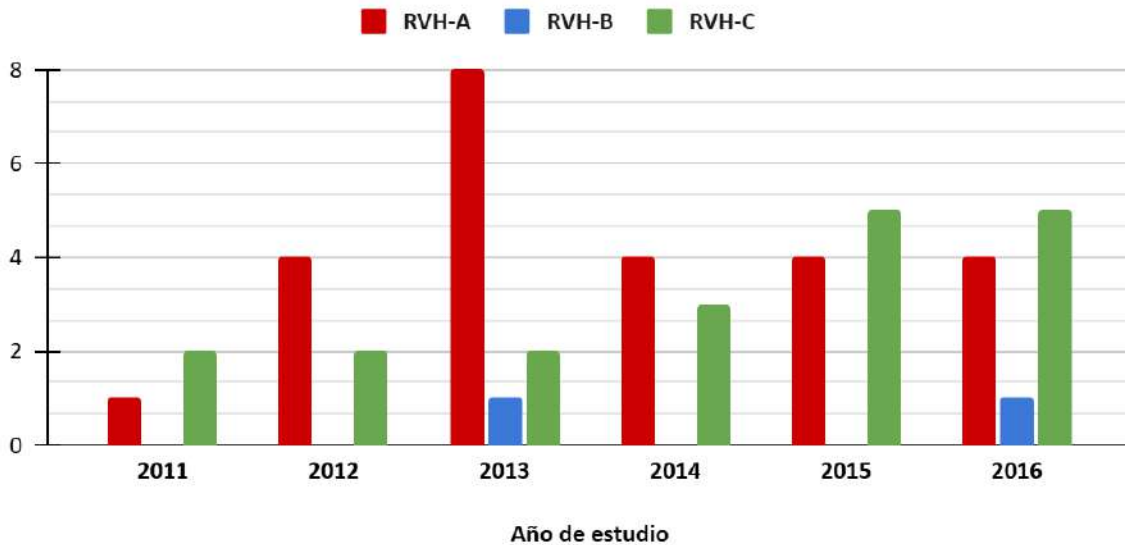


Gráfica 1. Distribución de 31 genotipos de RVh, estratificados por condición clínica. Se evidenció la predominancia de RVh-A12 y RVh-C6, asociados principalmente a pacientes hospitalizados, mientras que la proporción de casos ambulatorios fue mínima en comparación con el total analizado.

3.4 Distribución temporal de especies

En cuando a la distribución de RVh por año, el análisis de las secuencias obtenidas (46) reveló la co-circulación de las tres especies (RVh-A, RVh-B y RVh-C) durante el periodo 2011-2016. De las 46 secuencias obtenidas, 25 correspondieron a la especie RVh-A la cual mostró una presencia constante en todos los años estudiados, destacando el año 2013 con 8/25 secuencias caracterizadas. Por su parte, RVh-C también mostró una presencia constante durante los 6 años analizados. De esta especie se logró caracterizar un total de 19/46 secuencias y se destacó el predominio de esta especie en los dos últimos años del periodo estudiado (2015-2016). En contraste, la especie RVh-B fue la que presentó un menor número de secuencias, logrando identificar únicamente 2/46 secuencias distribuidas entre los años 2013 y 2016.

Distribución anual de especies de Rinovirus humano (RVh) genotipificadas en Panamá durante los años 2011-2016



Gráfica 2. Distribución Anual de las Especies de Rinovirus Humano (RVh) Genotipificadas en Panamá, 2011–2016. El gráfico de barras muestra la distribución de las especies de RVh (RVh-A, RVh-B y RVh-C) en los años de estudio. Las especies están representadas por colores: rojo (RVh-A), azul (RVh-B) y verde (RVh-C). Los resultados se basan en la caracterización molecular de las 46 secuencias de RVh que se obtuvieron con éxito en el periodo de estudio.

3.5 Datos epidemiológicos

Los datos epidemiológicos de las muestras recopilados por el Sistema de Vigilancia Nacional para Influenza y otros Virus Respiratorios señalan que 82.6% de las muestras procesadas, provienen de pacientes hospitalizados con cuadros leves o graves de IRA. 87% de las muestras provienen de pacientes menores de 5 años. De las 46 muestras analizadas, 6 (13.04%) presentaron coinfección con otro agente viral, siendo el más frecuente el virus Parainfluenza tipo 1 (HPIV-1). Cabe mencionar a otros como Virus sincitial respiratorio (RSV), Parainfluenza tipo 3 (HPIV-3) y Adenovirus (ADV).

De las muestras analizadas, el mayor número de muestras procesadas, secuenciadas y comparadas procedían de la región metropolitana de Panamá, seguido Veraguas y provincias centrales del país. Ver **Figura 8**.

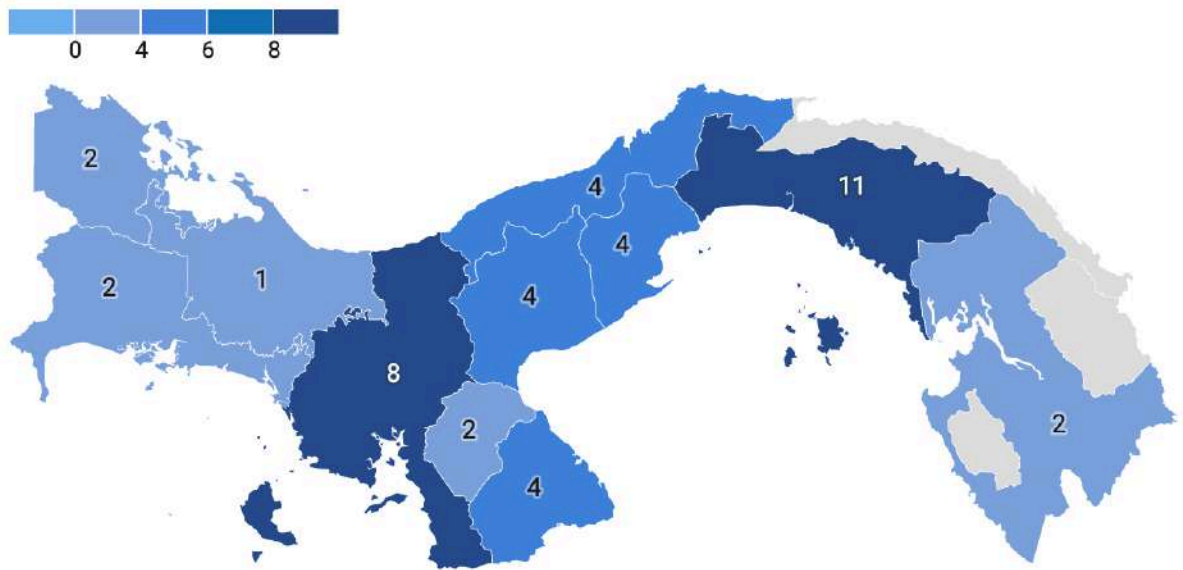
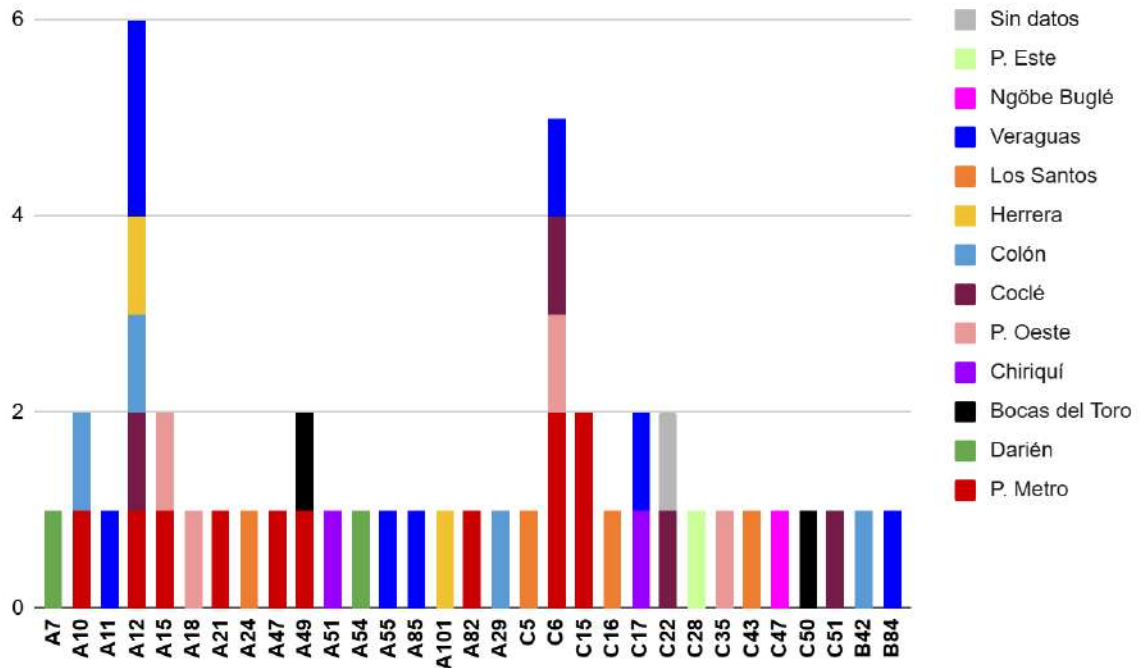


Fig. 8. Distribución geográfica de secuencias estudiadas. Mapa de Panamá mostrando la distribución de 46 secuencias de rinovirus humano (RVh) por provincia.

3.6 Distribución geográfica de genotipos identificados

Los 31 genotipos identificados en las 46 secuencias se distribuyeron geográficamente en 12 regiones del país según los datos proporcionados por el Sistema de Vigilancia Nacional para Influenza y otros Virus Respiratorios. El gráfico muestra la distribución geográfica de los 31 genotipos de RVh que se identificaron de las secuencias obtenidas provenientes de los años 2011-2016. Cada barra representa un genotipo y los colores indican la procedencia geográfica de las muestras positivas. Los genotipos A12 y C6 presentan la mayor distribución con 5 y 4 provincias respectivamente. Por su parte las regiones de Panamá Metro y Veraguas presentan el mayor número de genotipos identificados.



Gráfica 3. Distribución geográfica de los genotipos de RVh por provincia en Panamá durante el periodo de estudio. El genotipo RVh-A12 presenta la mayor distribución, detectado en cinco provincias, indicando su amplia dispersión territorial, seguido de el genotipo RVh-C6, presente en cuatro provincias. Los demás genotipos mostraron una circulación más limitada.

3.7 Árboles Filogenéticos

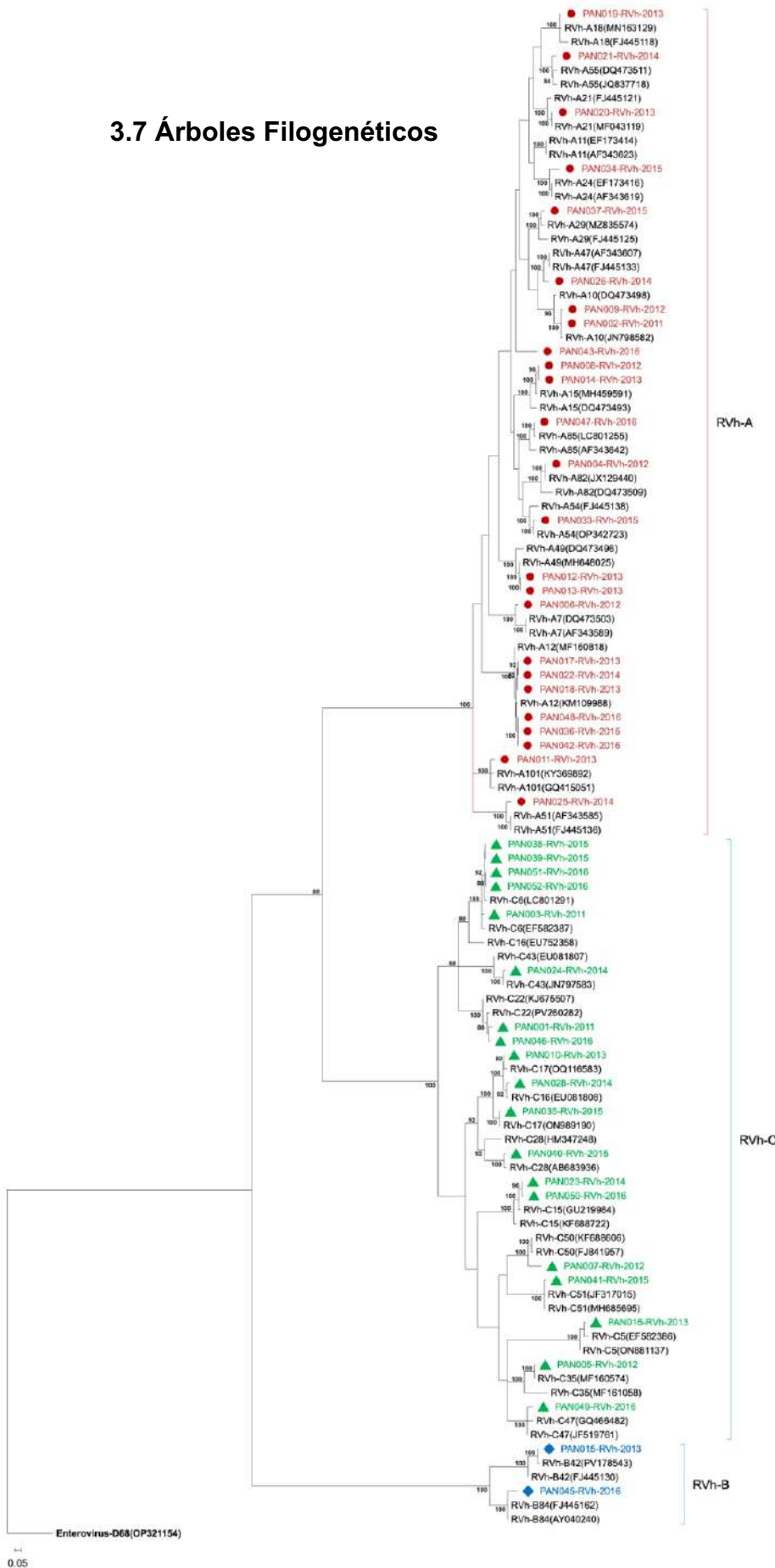
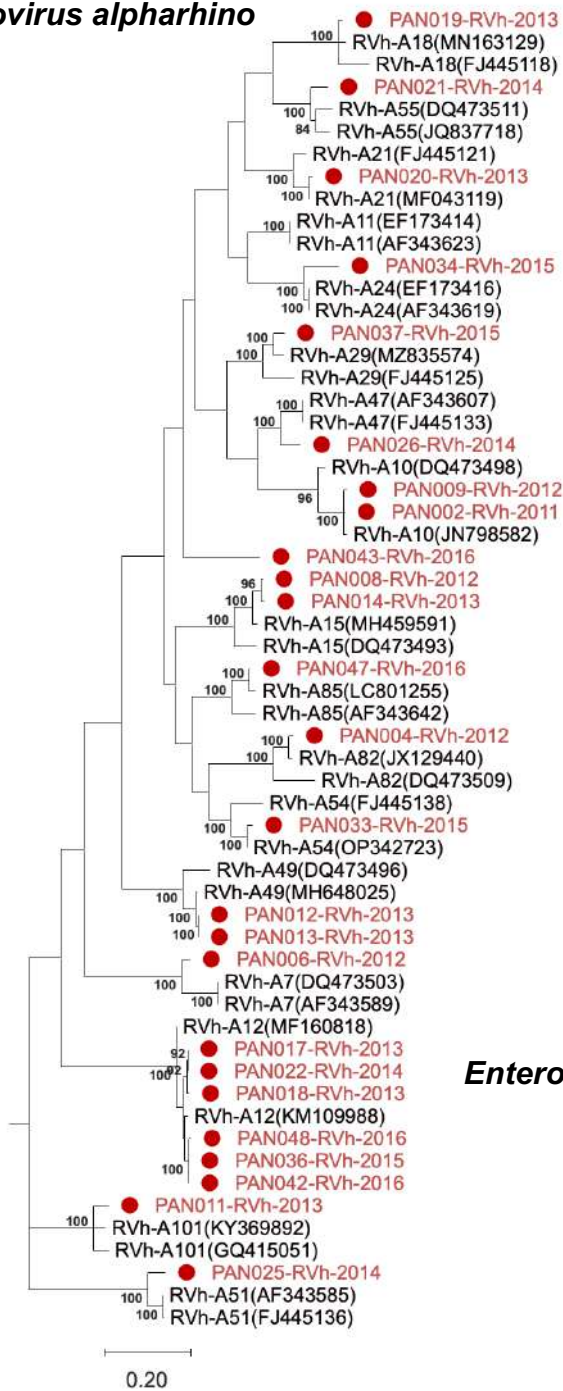
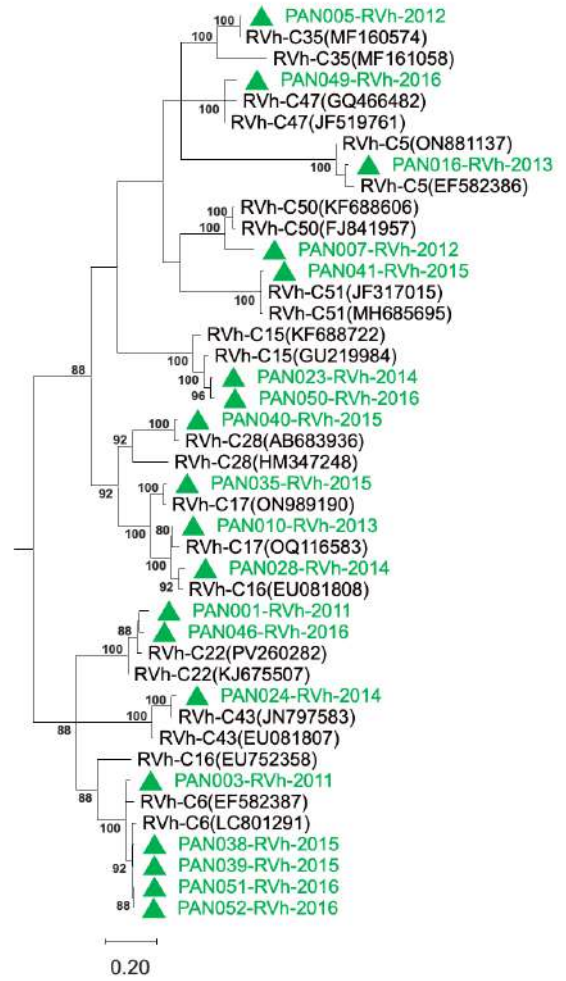


Fig.9. *Árbol filogenético de a región VP2-VP4 de rinovirus humano (RVh). Las secuencias panameñas están resaltadas en color rojo para la especie A, verde para la especie C y azul para la especie B; se utilizó una secuencia de Enterovirus D68 como raíz del árbol filogenético se muestra en negrita, las cepas de referencia incluyen su número de acceso en GenBank entre paréntesis. Este árbol se construyó mediante el método de máxima verosimilitud usando el Modelo Tamura Nei (TN93), mediante el software MEGA 12, con soporte estadístico estimado a partir de 1000 réplicas de bootstrap.*

Enterovirus alpharhino



Enterovirus cerhino



Enterovirus betarhino

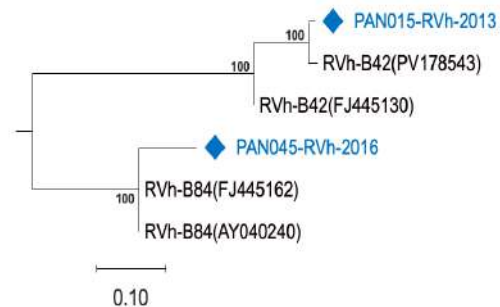
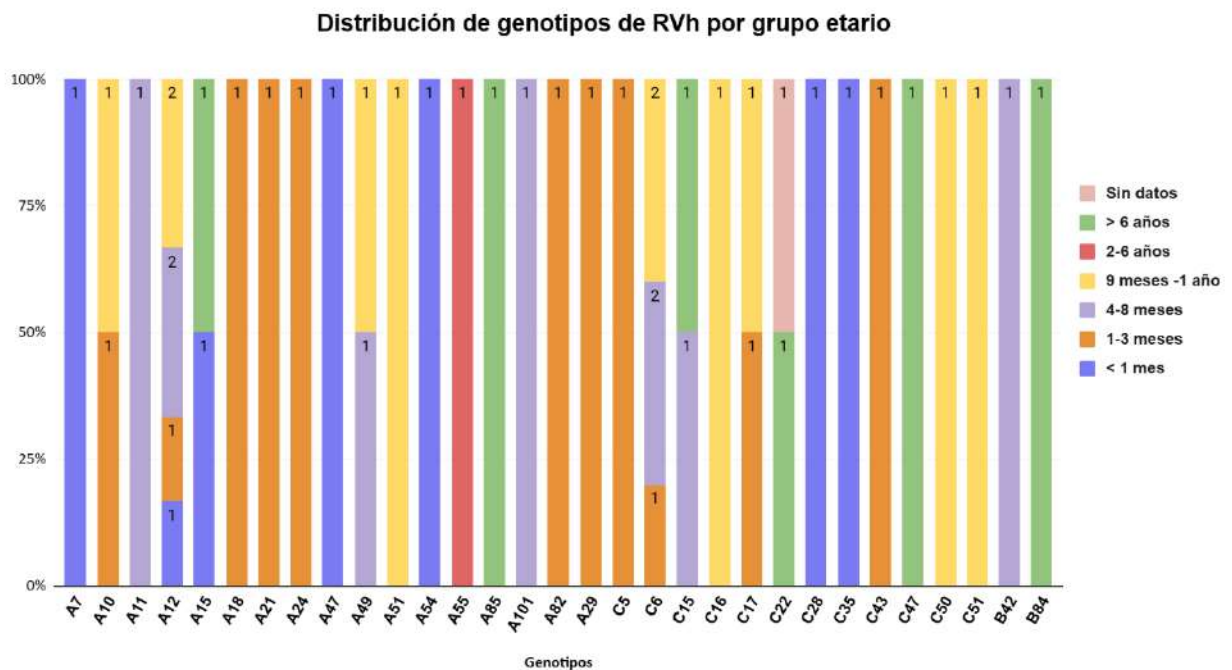


Fig.10. Árboles filogenéticos de la región VP2-VP4 de rinovirus humano (RVh) separados por especie. En el árbol perteneciente a *Enterovirus alpharhino* las secuencias panameñas están resaltadas en un círculo. Un triángulo verde para la especie *Enterovirus cerhino* y un rombo azul para la especie *Enterovirus betarhino*; las cepas de referencia incluyen su número de acceso en GenBank entre paréntesis. Este árbol se construyó mediante el método de máxima verosimilitud usando el Modelo Tamura Nei (TN93), mediante el software MEGA 12, con soporte estadístico estimado a partir de 1000 réplicas de bootstrap.

3.8 Distribución de genotipo por grupo etario

La distribución en los grupos etario de los 31 genotipos identificados en las 46 secuencias sugiere que la mayoría de estos genotipos se centran en la población de menores de 1 año, concretamente en los grupos de 1-3 meses y 9 meses a 1 año. Aunque esta distribución pertenece únicamente a 46 secuencias, se evidencia que los lactantes y niños pequeños son la población más susceptible, con una notable diversidad genotípica circulante en los primeros meses de vida.



Gráfica 4. Distribución de genotipos de rinovirus humano (RVh) según el grupo etario de los pacientes analizados entre 2011 y 2016. Cada barra representa un genotipo identificado, y los colores indican las categorías de edad. Se observa una mayor frecuencia de detecciones en lactantes menores de un año, especialmente en los grupos <1 mes, 1–3 meses y 4–8 meses.

CAPÍTULO IV

4. Discusión

Los recuentos epidemiológicos muestran que RVh es un virus de amplia circulación global y en población de riesgo puede llegar a causar IRA. En el contexto de este estudio, el 82.6% de los genotipos detectados se asociaron a pacientes hospitalizados por IRA. De acuerdo con nuestros análisis encontramos que RVh-A es la especie más prevalente con un 54.8% del total analizado seguido de RVh-C (41.31%) y RVh-B (4.35%), esto coincide con los datos publicados por Franco et al., (2012) para Panamá, donde el 60% de sus secuencias analizadas correspondían a RVh-A. Esto se relaciona con un estudio realizado por la Red de Vigilancia de Nuevas Vacunas de EE. UU. Donde reportan que existe una mayor frecuencia de hospitalizaciones por IRA en las especies RVh-A y RVh-C que RVh-B (Banerjee et al., 2025).

Existe una marcada diversidad genotípica entre las 3 especies de RVh. De las 25 secuencias de RVh-A, 18 eran genotipos diferentes, para RVh-C de sus 19 secuencias 11 son genotipos distintos y para RVh-B las dos secuencias son genotipos distintos. RVh conforma uno de los grupos con mayor diversidad genética dentro del género *Enterovirus*. Esta amplia variabilidad genotípica se debe a las variaciones en las regiones capsídicas como VP1, la secuenciación y clasificación genética de esta región genómica ha permitido reconocer 169 genotipos distribuidos entre las 3 especies de RVh. Su elevada diversidad y prevalencia genotípica en las secuencias estudiadas indica que no existe un genotipo predominante, esto llega a diferenciar a RVh de otros virus causantes de IRA como VRS o Influenza (Franco et al., 2012) (Wang et al., 2024).

El predominio de la especie RVh-A en Panamá concuerda con estudios previos por Franco et al., (2012), quienes también observaron una mayor proporción de secuencias pertenecientes a esta especie. Sin embargo, estudios similares reportan el predominio de la especie RVh-C sobre RVh-A y RVh-B. El análisis de datos epidemiológicos no relaciona la predominancia de un genotipo en particular de RVh

con la severidad clínica. En cuanto a la comparación filogenética con secuencias de referencia globales depositadas en el banco de genes mostró que los genotipos caracterizados en Panamá se comparan de manera satisfactoria con los grupos descritos en otras regiones, esto indica que la circulación viral en Panamá responde a patrones globales y no a genotipos restringidos geográficamente (Banerjee et al., 2025; Wang et al., 2024; Da Costa Souza et al., 2021)

La asociación de los genotipos identificados con los cuadros hospitalarios (82.6%) muestra el impacto del RVh como agente causal de infección respiratoria aguda (IRA), especialmente en niños menores de un año, quienes constituyeron el grupo más afectado. Estos datos se contrastan con la percepción de que los rinovirus generan cuadros leves de infección respiratoria, y puntualiza que, en poblaciones vulnerables, pueden estar relacionados con formas más severas de enfermedad como IRA grave. El análisis de los genotipos dominantes de este estudio (A12 y C6) en pacientes hospitalizados sugiere una posible relación entre la circulación de ciertos genotipos y la condición clínica, aunque estudios adicionales de cohorte y con más datos muestrales, serían necesarios para establecer asociaciones causales.

La presencia de coinfecciones en un 13.4% de las muestras, con el virus Parainfluenza tipo 1 como el agente más frecuente, coincide con reportes que indican que las coinfecciones virales pueden agravar el cuadro clínico de la enfermedad, ya sea exacerbando los síntomas o dificultando el diagnóstico (Esneau et al., 2022). Un estudio realizado en Túnez por Haddad-Boubaker et al. (2021) reportó coinfecciones de RVh con otros agentes virales en los que se destacan virus sincitial respiratorio, Bocavirus y virus Parainfluenza. Por otro lado, un estudio más reciente realizado en China en 2025 describió 39 casos confirmados de coinfección, predominando las asociaciones entre RVh y adenovirus (20/39), seguido de RVh y virus respiratorio sincitial (9/39) (Shi et al., 2025). Estos resultados son consistentes con los datos de este estudio lo que pone de manifiesto la continuidad y ampliación de los paneles de

detección molecular, en la vigilancia epidemiológica y en la atención hospitalaria en Panamá.

Los datos deben interpretarse considerando las limitaciones del estudio. En primer lugar, el tamaño de la muestra y las secuencias obtenidas es reducida en relación con el periodo analizado (2011–2016), lo que podría subestimar la verdadera diversidad genotípica circulante en el país. Además, como se trata de un estudio retrospectivo basado en la obtención de secuencias genéticas, no es posible controlar la representatividad del muestreo ni garantizar que esta obtención incluya casos distribuidos equitativamente por región o severidad clínica.

A pesar de las limitaciones, los resultados aportan evidencia valiosa sobre la circulación de RVh en Panamá y apoyan la necesidad de fortalecer la vigilancia molecular continua para comprender mejor los patrones epidemiológicos locales y su relación con la dinámica global de RVh.

CAPÍTULO V

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

- El análisis molecular permitió caracterizar la diversidad genotípica de RVh en Panamá durante el período 2011–2016, identificando un total de 31 genotipos distintos, distribuidos entre las especies RVh-A, RVh-B y RVh-C. Esta elevada variabilidad genética confirma que el RVh constituye uno de los grupos más diversos dentro del género *Enterovirus* y resalta la secuenciación como herramienta fundamental para su clasificación y vigilancia epidemiológica. La presencia simultánea de múltiples genotipos demuestra una circulación viral dinámica y compleja, correlacionada con patrones descritos a nivel global.
- La especie RVh-A fue la predominante en este estudio durante el periodo estudiado (2011-2016), seguido por RVh-C y en menor proporción RVh-B, lo que concuerda con estudios previos realizados en Panamá. Además, los genotipos A12 y C6 fueron los más frecuentes dentro de la muestra analizada, aunque es necesario el análisis de un grupo mayor de secuencias para establecer relaciones causales entre genotipos y severidad clínica. Los esfuerzos en el procesamiento de las muestras hasta su caracterización genotípica, aunado a la recopilación de data epidemiológica, sugiere que la vigilancia panameña del RVh responde a las mínimas exigencias globales.
- En cuanto a severidad clínica, el estudio evidenció que el 82.6% de los casos correspondieron a pacientes hospitalizados, lo que refuerza el rol del RVh como un agente relevante en el desarrollo de IRA moderada a grave, sobre todo en poblaciones vulnerables. Los grupos etarios más afectados fueron los menores de un año, lo que concuerda con la susceptibilidad conocida en este rango de edad debido a la inmadurez del sistema inmunológico. La concentración de los genotipos más frecuentes en pacientes hospitalizados es un aspecto que merece investigación futura, que evalúe una posible prevalencia genotípica.

- El 13.4% de las muestras analizadas presentó coinfección con otros virus, siendo Parainfluenza tipo 1 el agente más comúnmente asociado. Esto refleja la complejidad clínica de las IRA y destaca la necesidad de considerar las coinfecciones en el diagnóstico e interpretación de los síntomas. La literatura discute que la coexistencia de RVh con otros patógenos puede influir en la gravedad del cuadro clínico, en la respuesta inflamatoria y en la evolución del paciente, esto pone de manifiesto la importancia de incluir las coinfecciones en con otros agentes patógenos en estudios futuros de RVh.
- Las comparaciones filogenéticas con secuencias de referencia permitieron establecer que los genotipos identificados en Panamá mantienen relaciones evolutivas claras con los clados previamente descritos, mostrando altos niveles de identidad con cepas de diversas regiones del mundo. Esto indica que la circulación viral en Panamá es parte de un flujo genético global, influenciado por la globalización y la dinámica de movilidad humana.
- Los resultados de este estudio demuestran que el RVh mantiene una circulación activa, diversa y clínicamente significativa en Panamá, y que sus patrones de diversidad, distribución por especies y comportamiento clínico guardan estrecha relación con los observados a nivel global. Estos datos impulsan la necesidad de fortalecer los sistemas de vigilancia epidemiológica con herramientas moleculares, para el monitoreo de la variabilidad genética de RVh, identificar la emergencia de nuevos genotipos, comprender su impacto epidemiológico y orientar estrategias de salud pública relacionadas con la prevención, el diagnóstico y el manejo de las infecciones respiratorias agudas.

5.2 Recomendaciones

- Fortalecer la vigilancia molecular del RVh implementando y manteniendo sistemas de vigilancia basados en secuenciación, que permitan monitorear la diversidad genética, detectar la emergencia de nuevos genotipos y evaluar posibles cambios en la distribución de especies.
- Priorizar el estudio de poblaciones pediátricas debido a que los lactantes mostraron mayor riesgo de evolución clínica desfavorable y, por ende, hospitalización. Por ello se recomienda establecer protocolos específicos de detección y seguimiento clínico en este grupo etario, especialmente en contextos hospitalarios.
- Expandir la investigación sobre la relación genotipo-severidad realizando estudios que evalúen si ciertos genotipos virales están asociados a mayor gravedad clínica, lo cual podría ayudar a anticipar brotes severos o a adaptar estrategias de manejo hospitalario.
- Promover estudios longitudinales de manera que se pueda investigar la dinámica temporal de circulación de los genotipos, su estacionalidad y su persistencia permitiendo comprender mejor su comportamiento epidemiológico y anticipar picos de incidencia.
- Establecer bases para estudios inmunológicos considerando investigaciones orientadas a la respuesta inmune frente a los genotipos predominantes, lo que podría contribuir al desarrollo futuro de terapias o estrategias preventivas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alkindi, S., Al-Yahyai, T., Raniga, S., Boulassel, M. R., & Pathare, A. (2020). Respiratory Viral Infections in Sickle Cell Anemia: Special Emphasis on H1N1 Co infection. *Oman Medical Journal*, 35(6), e197. <https://doi.org/10.5001/omj.2020.89>
2. Andrup, L., Krogfelt, K. A., Hansen, K. S., & Madsen, A. M. (2022). Transmission route of rhinovirus - the causative agent for common cold. A systematic review. *American Journal Of Infection Control*, 51(8), 938-957. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2022.12.005>
3. Arden, K. E., Greer, R. M., Wang, C. Y., & Mackay, I. M. (2019). Genotypic diversity, circulation patterns and co-detections among rhinoviruses in Queensland, 2001. *Access Microbiology*, 2(1), acmi000075. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000075>
4. Baggen, J., Thibaut, H. J., Strating, J. R. P. M., & Van Kuppeveld, F. J. M. (2018). The life cycle of non-polio enteroviruses and how to target it. *Nature Reviews Microbiology*, 16(6), 368–381. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0005-4>
5. Bahabri, I., Abdulaal, A., Alanazi, T., Alenazy, S., Alrumih, Y., Alqahtani, R., Bosaeed, M., & Al-Dorzi, H. M. (2022). Characteristics, Management, and Outcomes of Community-Acquired Pneumonia Due to Human Rhinovirus—A Retrospective Study. *Canadian Respiratory Journal*, 2022, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2022/1349994>
6. Banerjee, D., Schuster, J. E., Midgley, C. M., Lee, B., Moffatt, M., Lively, J. Y., Toepfer, A. P., Weinberg, G. A., Boom, J. A., Sahni, L. C., Avadhanula, V., Piedra, P. A., Staat, M. A., Payne, D. C., Halasa, N., Williams, J. V., Hickey, R. W., Michaels, M. G., Englund, J. A., . . . Selvarangan, R. (2025). Epidemiology and genotypic diversity of rhinovirus in school-age children with acute respiratory illnesses

- seeking medical care. *Journal of Clinical Virology*, 179, 105806. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2025.105806>
7. Barclay, W. S., Al-Nakib, W., Higgins, P. G., & Tyrrell, D. A. J. (1989). The time course of the humoral immune response to rhinovirus infection. *Epidemiology And Infection*, 103(3), 659-669. <https://doi.org/10.1017/s095026880003106x>
 8. Basharat, U., Aiche, M. M., Kim, M. M., Sohal, M., & Chang, E. H. (2019). Are rhinoviruses implicated in the pathogenesis of sinusitis and chronic rhinosinusitis exacerbations? A comprehensive review. *International Forum Of Allergy & Rhinology*, 9(10), 1159-1188. <https://doi.org/10.1002/alr.22403>
 9. Berginc, N., Sočan, M., Trilar, K. P., & Petrovec, M. (2024). Seasonality and Genotype Diversity of Human Rhinoviruses during an Eight-Year Period in Slovenia. *Microorganisms*, 12(2), 341. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020341>
 10. Bochkov, Y. A., & Gern, J. E. (2016). Rhinoviruses and their receptors: Implications for allergic disease. *Current Allergy and Asthma Reports*, 16(4). <https://doi.org/10.1007/s11882-016-0608-7>
 11. Cafferkey, J., Coultas, J. A., & Mallia, P. (2020). Human rhinovirus infection and COPD: role in exacerbations and potential for therapeutic targets. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 14(8), 777–789. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1764354>
 12. Da Costa Souza, L., Bello, E. J. M., Santos, E. M. D., & Nagata, T. (2021). Molecular and clinical characteristics related to rhinovirus infection in Brasília, Brazil. *Brazilian Journal Of Microbiology*, 52(1), 289-298. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00411-0>

13. Dominguez, S. R., Briese, T., Palacios, G., Hui, J., Villari, J., Kapoor, V., Tokarz, R., Glodé, M. P., Anderson, M. S., Robinson, C. C., Holmes, K. V., & Lipkin, W. I. (2008). Multiplex MassTag-PCR for respiratory pathogens in pediatric nasopharyngeal washes negative by conventional diagnostic testing shows a high prevalence of viruses belonging to a newly recognized rhinovirus clade. *Journal Of Clinical Virology*, 43(2), 219-222. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.06.007>
14. Dreschers, S., Dumitru, C. A., Adams, C., & Gulbins, E. (2006). The cold case: Are rhinoviruses perfectly adapted pathogens? *Cellular And Molecular Life Sciences*, 64(2), 181-191. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6266-5>
15. Eccles, R. (2005). Understanding the symptoms of the common cold and influenza. *The Lancet Infectious Diseases*, 5(11), 718-725. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(05\)70270-x](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(05)70270-x)
16. Esneau, C., Duff, A. C., & Bartlett, N. W. (2022). Understanding Rhinovirus Circulation and Impact on Illness. *Viruses*, 14(1), 141. <https://doi.org/10.3390/v14010141>
17. Essaidi-Laziosi, M., Alvarez, C., Puhach, O., Sattonnet-Roche, P., Torriani, G., Tapparel, C., Kaiser, L., & Eckerle, I. (2021). Sequential infections with rhinovirus and influenza modulate the replicative capacity of SARS-CoV-2 in the upper respiratory tract. *Emerging Microbes & Infections*, 11(1), 413-424. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.2021806>
18. Fraenkel, D. J., Bardin, P. G., Sanderson, G., Lampe, F., Johnston, S. L., & Holgate, S. T. (1995). Lower Airways Inflammation during Rhinovirus Colds in Normal and in Asthmatic Subjects. *American Journal Of*

Respiratory And Critical Care Medicine, 151(3_pt_1), 879-886.
https://doi.org/10.1164/ajrccm/151.3_pt_1.879

19. Franco, D., Delfraro, A., Abrego, L., Cano, M., Castillo, C., Castillo, M., Castillo, J., Pascale, J., & Arbiza, J. (2012). High genetic diversity and predominance of Rhinovirus A and C from Panamanian hospitalized children under five years with respiratory infections. *Virology Journal*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1743-422x-9-257>
20. Gao, Y., Zhou, J., Wang, M., Liang, Y., Zhang, T., Mao, Y., Ma, J., Li, L., Zhang, T., & Guo, L. (2024). Characteristics of upper respiratory tract rhinovirus in children with allergic rhinitis and its role in disease severity. *Microbiology Spectrum*, 12(7). <https://doi.org/10.1128/spectrum.03853-23>
21. *Genus: enterovirus* | ICTV. Recuperado 22 de noviembre de 2025, de <https://ictv.global/report/chapter/picornaviridae/picornaviridae/enterovirus>
22. Georgieva, I., Stoyanova, A., Angelova, S., Korsun, N., Stoitsova, S., & Nikolaeva Glomb, L. (2023). Rhinovirus Genotypes Circulating in Bulgaria, 2018–2021. *Viruses*, 15(7), 1608. <https://doi.org/10.3390/v15071608>
23. Giardina, F. a. M., Piralla, A., Ferrari, G., Zavaglio, F., Cassaniti, I., & Baldanti, F. (2022). Molecular Epidemiology of Rhinovirus/Enterovirus and their role on cause severe and prolonged infection in hospitalized patients. *Microorganisms*, 10(4), 755. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040755>
24. Granados, A., Peci, A., McGeer, A., & Gubbay, J. B. (2016). Influenza and rhinovirus viral load and disease severity in upper respiratory tract

- infections. *Journal Of Clinical Virology*, 86, 14-19. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.11.008>
25. Golke, P., Hönemann, M., Bergs, S., & Liebert, U. G. (2021). Human Rhinoviruses in Adult Patients in a Tertiary Care Hospital in Germany: Molecular Epidemiology and Clinical Significance. *Viruses*, 13(10), 2027 <https://doi.org/10.3390/v13102027>
26. Goya, S., Wendm, S. T., Xie, H., Nguyen, T. V., Barnes, S., Shankar, R. R., Sereewit, J., Cruz, K., Pérez-Osorio, A. C., Mills, M. G., & Greninger, A. L. (2024). Genomic Epidemiology and Evolution of Rhinovirus in Western Washington State, 2021–2022. *The Journal Of Infectious Diseases*, 231(1), e154-e164. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiae347>
27. Gutman, J. A., Peck, A. J., Kuypers, J., & Boeckh, M. (2007). Rhinovirus as a cause of fatal lower respiratory tract infection in adult stem cell transplantation patients: a report of two cases. *Bone Marrow Transplantation*, 40(8), 809-811. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1705827>
28. Haddad-Boubaker, S., Mefteh, K., Mejri, C., Bouaffsoun, A., Moussi, A. E., Boutiba, I., Mnif, K., Slim, A., Kechrid, A., & Smaoui, H. (2021). High genotypic diversity of Rhinoviruses obtained from Tunisian children with severe acute respiratory infection. *The Journal Of Infection In Developing Countries*, 15(05), 726-735. <https://doi.org/10.3855/jidc.12880>
29. Hamparian, V. V., Colonno, R. J., Cooney, M. K., Dick, E. C., Gwaltney, J. M., Hughes, J. H., Jordan, W. S., Kapikian, A. Z., Mogabgab, W. J., & Monto, A. (1987). A collaborative report: Rhinoviruses—Extension of the numbering system from 89 to 100. *Virology*, 159(1), 191-192. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(87\)90367-9](https://doi.org/10.1016/0042-6822(87)90367-9)

30. Hasegawa, K., Jartti, T., Bochkov, Y. A., Gern, J. E., Mansbach, J. M., Piedra, P. A., Toivonen, L., & Camargo, C. A. (2018). Rhinovirus Species in Children With Severe Bronchiolitis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 38(3), e59-e62. <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000002141>
31. Hatchwell, L., Collison, A., Girkin, J., Parsons, K., Li, J., Zhang, J., Phipps, S., Knight, D., Bartlett, N. W., Johnston, S. L., Foster, P. S., Wark, P. A. B., & Mattes, J. (2015). Toll-like receptor 7 governs interferon and inflammatory responses to rhinovirus and is suppressed by IL-5-induced lung eosinophilia. *Thorax*, 70(9), 854-861. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2014-205465>
32. Hayashi, Y., Sada, M., Shirai, T., Okayama, K., Kimura, R., Kondo, M., Okodo, M., Tsugawa, T., Ryo, A., & Kimura, H. (2022). Rhinovirus infection and Virus-Induced asthma. *Viruses*, 14(12), 2616. <https://doi.org/10.3390/v14122616>
33. Jackson, D. J., Gangnon, R. E., Evans, M. D., Roberg, K. A., Anderson, E. L., Pappas, T. E., Printz, M. C., Lee, W., Shult, P. A., Reisdorf, E., Carlson-Dakes, K. T., Salazar, L. P., DaSilva, D. F., Tisler, C. J., Gern, J. E., & Lemanske, R. F. (2008). Wheezing Rhinovirus Illnesses in Early Life Predict Asthma Development in High-Risk Children. *American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine*, 178(7), 667-672. <https://doi.org/10.1164/rccm.200802-309oc>
34. Jacobs, S. E., Lamson, D. M., St George, K., & Walsh, T. J. (2013). Human rhinoviruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), 135-162. <https://doi.org/10.1128/cmr.00077-12>
35. Kelly, J. T., & Busse, W. W. (2008). Host immune responses to rhinovirus: Mechanisms in asthma. *Journal Of Allergy And Clinical Immunology*, 122(4), 671-682. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.08.013>

36. Kenmoe, S., Kengne-Nde, C., Ebogo-Belobo, J. T., Mbagha, D. S., Modiyinji, A. F., & Njouom, R. (2020). Systematic review and meta-analysis of the prevalence of common respiratory viruses in children < 2 years with bronchiolitis in the pre-COVID-19 pandemic era. *PLoS ONE*, 15(11), e0242302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242302>
37. Kennedy, J. L., Turner, R. B., Braciale, T., Heymann, P. W., & Borish, L. (2012). Pathogenesis of rhinovirus infection. *Current Opinion In Virology*, 2(3), 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.03.008>
38. Kong, D., Zheng, Y., Hu, L., Chen, J., Wu, H., Teng, Z., Zhou, Y., Qiu, Q., Lu, Y., & Pan, H. (2021). Epidemiological and co-infection characteristics of common human coronaviruses in Shanghai, 2015–2020: a retrospective observational study. *Emerging Microbes & Infections*, 10(1), 1660-1668. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1965498>
39. Korpi-Steiner, N. L., Bates, M. E., Lee, W., Hall, D. J., & Bertics, P. J. (2006). Human rhinovirus induces robust IP-10 release by monocytic cells, which is independent of viral replication but linked to type I interferon receptor ligation and STAT1 activation. *Journal Of Leukocyte Biology*, 80(6), 1364-1374. <https://doi.org/10.1189/jlb.0606412>
40. Lim, J. T., Tan, K. B., Abisheganaden, J., & Dickens, B. L. (2023). Forecasting upper respiratory tract infection burden using high-dimensional time series data and forecast combinations. *PLoS Computational Biology*, 19(2), e1010892. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1010892>
41. Li, X., Wang, M., Cheng, A., Wen, X., Ou, X., Mao, S., Gao, Q., Sun, D., Jia, R., Yang, Q., Wu, Y., Zhu, D., Zhao, X., Chen, S., Liu, M., Zhang, S., Liu, Y., Yu, Y., Zhang, L., . . . Chen, X. (2020). Enterovirus replication

- organelles and inhibitors of their formation. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01817>
42. Ljubin-Sternak, S., & Meštrović, T. (2023). Rhinovirus—A True Respiratory Threat or a Common Inconvenience of Childhood? *Viruses*, 15(4), 825. <https://doi.org/10.3390/v15040825>
43. Lopez-Souza, N., Dolganov, G., Dubin, R., Sachs, L. A., Sassina, L., Sporer, H., Yagi, S., Schnurr, D., Boushey, H. A., & Widdicombe, J. H. (2004). Resistance of differentiated human airway epithelium to infection by rhinovirus. *American Journal Of Physiology-Lung Cellular And Molecular Physiology*, 286(2), L373-L381. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00300.2003>
44. Malcolm, E., Arruda, E., Hayden, F. G., & Kaiser, L. (2001). Clinical features of patients with acute respiratory illness and rhinovirus in their bronchoalveolar lavages. *Journal Of Clinical Virology*, 21(1), 9-16. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(00\)00180-3](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(00)00180-3)
45. Malekshahi, S. S., Khani, F., Shafiei-Jandaghi, N., Shadab, A., Mokhtari-Azad, T., & Yavarian, J. (2022, April 1). Prevalence and Genotypes of Human Rhinoviruses among Iranian Hajj Pilgrims with Severe Acute Respiratory. *Infection*. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10423871/>
46. Mauclin, M., Guillien, A., Niespodziana, K., Boudier, A., Schleder, T., Bajic, M., Errhalt, P., Borochova, K., Pin, I., Gormand, F., Vernet, R., Bousquet, J., Bouzigon, E., Valenta, R., & Siroux, V. (2024). Association between asthma and IgG levels specific for rhinovirus and respiratory syncytial virus antigens in children and adults. *Journal Of Allergy And Clinical Immunology Global*, 4(1), 100342. <https://doi.org/10.1016/j.jaciq.2024.100342>

47. McIntyre, C. L., Knowles, N. J., & Simmonds, P. (2013). Proposals for the classification of human rhinovirus species A, B and C into genotypically assigned types. *Journal of General Virology*, 94(8), 1791–1806. <https://doi.org/10.1099/vir.0.053686-0>
48. Melia, C. E., Peddie, C. J., De Jong, A. W. M., Snijder, E. J., Collinson, L. M., Koster, A. J., Van Der Schaar, H. M., Van Kuppeveld, F. J. M., & Bárcena, M. (2019). Origins of enterovirus replication organelles established by Whole-Cell electron Microscopy. *mBio*, 10(3). <https://doi.org/10.1128/mbio.00951-19>
49. Message, S. D., & Johnston, S. L. (2003). Host defense function of the airway epithelium in health and disease: clinical background. *Journal Of Leukocyte Biology*, 75(1), 5-17. <https://doi.org/10.1189/jlb.0703315>
50. Morelli, T., Freeman, A., Staples, K. J., & Wilkinson, T. M. A. (2025). Hidden in plain sight: the impact of human rhinovirus infection in adults. *Respiratory Research*, 26(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s12931-025-03178-w>
51. Papadopoulos, N. G., Bates, P. J., Bardin, P. G., Papi, A., Leir, S. H., Fraenkel, D. J., Meyer, J., Lackie, P. M., Sanderson, G., Holgate, S. T., & Johnston, S. L. (2000). Rhinoviruses Infect the Lower Airways. *The Journal Of Infectious Diseases*, 181(6), 1875-1884. <https://doi.org/10.1086/315513>
52. Papadopoulos, N. G. (2004). Do rhinoviruses cause pneumonia in children? *Paediatric Respiratory Reviews*, 5, S191-S195. [https://doi.org/10.1016/s1526-0542\(04\)90036-x](https://doi.org/10.1016/s1526-0542(04)90036-x)

53. Pinky, L., & Dobrovoly, H. M. (2016). Coinfections of the Respiratory Tract: Viral Competition for Resources. *PLoS ONE*, 11(5), e0155589. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155589>
54. Price, W. H. (1956). The isolation of a new virus associated with respiratory clinical disease in humans. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 42(12), 892-896. <https://doi.org/10.1073/pnas.42.12.892>
55. Rahajamanana, V. L., Thériault, M., Rabezanahary, H., Sahnoun, Y. G., Mallet, M. C., Isabel, S., Trottier, S., & Baz, M. (2025). Advances in the treatment of Enterovirus-D68 and rhinovirus respiratory infections. *Infectious Disease Reports*, 17(3), 61. <https://doi.org/10.3390/idr17030061>
56. Royston, L., & Tapparel, C. (2016). Rhinoviruses and Respiratory Enteroviruses: Not as Simple as ABC. *Viruses*, 8(1), 16. <https://doi.org/10.3390/v8010016>
57. Shi, Y., Yuan, K., Yue, L., Liu, T., Liu, J., Dai, L., & Qi, Y. (2025). Clinical characteristics of single human rhinovirus infection and co-infection in the respiratory tract of children. *Translational Pediatrics*, 14(3), 373-381. <https://doi.org/10.21037/tp-24-79>
58. Simmonds, P., Gorbalenya, A. E., Harvala, H., Hovi, T., Knowles, N. J., Lindberg, A. M., Oberste, M. S., Palmenberg, A. C., Reuter, G., Skern, T., Tapparel, C., Wolthers, K. C., Woo, P. C. Y., & Zell, R. (2020). Recommendations for the nomenclature of enteroviruses and rhinoviruses. *Archives Of Virology*, 165(3), 793-797. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04520-6>

59. Stanway, G., Hughes, P. J., Mountford, R. C., Minor, P. D., & Almond, J. W. (1984). The complete nucleotide sequence of a common cold virus: human rhinovirus 14. *Nucleic Acids Research*, 12(20), 7859-7875. <https://doi.org/10.1093/nar/12.20.7859>
60. Sun, Y., Tamura, T., Kyaw, Y., Setk, S., Aye, M. M., Tin, H. H., Win, S. M. K., Li, J., Purnama, T. B., Chon, I., Wagatsuma, K., Watanabe, H., & Saito, R. (2025). Surveillance of Respiratory Pathogens Among Rapid Diagnostic Test-Negative Acute Respiratory Infection Patients in Myanmar in 2023, with a Focus on Rhinovirus and Enterovirus Genotyping. *Viruses*, 17(6), 860. <https://doi.org/10.3390/v17060860>
61. Tyrrell, D. A. J., & Chanock, R. M. (1963). Rhinoviruses: A description. *Science*, 141(3576), 152-153. <https://doi.org/10.1126/science.141.3576.152>
62. Van Benten, I., Koopman, L., Niesters, B., Hop, W., Van Middelkoop, B., De Waal, L., Van Drunen, K., Osterhaus, A., Neijens, H., & Fokkens, W. (2003). Predominance of rhinovirus in the nose of symptomatic and asymptomatic infants. *Pediatric Allergy And Immunology*, 14(5), 363-370. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3038.2003.00064.x>
63. Walker, E., & Ison, M. G. (2014). Respiratory viral infections among hospitalized adults: experience of a single tertiary healthcare hospital. *Influenza And Other Respiratory Viruses*, 8(3), 282-292. <https://doi.org/10.1111/irv.12237>
64. Wang, Q., Huang, Q., Luo, Q., Wei, X., Wang, X., Li, M., Gong, C., & Huang, F. (2024). High diversity in genotypes of human rhinovirus contributes to high prevalence in Beijing, 2018-2022: A Retrospective Multiple-Center Epidemiological Study. *PubMed*, 37(11), 1262–1272. <https://doi.org/10.3967/bes2024.126>

65. Wark, P. A., Bucchieri, F., Johnston, S. L., Gibson, P. G., Hamilton, L., Mimica, J., Zummo, G., Holgate, S. T., Attia, J., Thakkinstian, A., & Davies, D. E. (2007). IFN- γ -induced protein 10 is a novel biomarker of rhinovirus-induced asthma exacerbations. *Journal Of Allergy And Clinical Immunology*, 120(3), 586-593. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.04.046>
66. Wilkinson, T. M. A., Aris, E., Bourne, S., Clarke, S. C., Peeters, M., Pascal, T. G., Schoonbroodt, S., Tuck, A. C., Kim, V., Ostridge, K., Staples, K. J., Williams, N., Williams, A., Wootton, S., & Devaster, J. (2017). A prospective, observational cohort study of the seasonal dynamics of airway pathogens in the aetiology of exacerbations in COPD. *Thorax*, 72(10), 919-927. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2016-209023>
67. Wu, A., Mihaylova, V. T., Landry, M. L., & Foxman, E. F. (2020). Interference between rhinovirus and influenza A virus: a clinical data analysis and experimental infection study. *The Lancet Microbe*, 1(6), e254–e262. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(20\)30114-2](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(20)30114-2)
68. Xiao, Q., Zheng, S., Zhou, L., Ren, L., Xie, X., Deng, Y., Tian, D., Zhao, Y., Fu, Z., Li, T., Huang, A., & Liu, E. (2015). Impact of Human Rhinovirus Types and Viral Load on the Severity of Illness in Hospitalized Children With Lower Respiratory Tract Infections. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 34(11), 1187-1192. <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000000879>

ANEXOS

Tabla 1. Datos de muestras analizadas, procedentes del Programa de Vigilancia Epidemiológica para Influenza y otros virus respiratorios.

<i>Año</i>	<i>Nombre</i>	<i>Edad</i>	<i>Región</i>	<i>Condición clínica</i>	<i>Coinfección</i>	<i>Genotipo</i>
2011	PAN001-RVh-2011	-	-	-	-	C22
	PAN002-RVh-2011	9 meses	Metro	Ambulatorio	No	A10
	PAN003-RVh-2011	2 meses	Metro	Hospitalizado	No	C6
2012	PAN004-RVh-2012	1 mes	Metro	Hospitalizado	Hmpv	A82
	PAN005-RVh-2012	29 días	P. Oeste	Hospitalizado	No	C35
	PAN006-RVh-2012	24 días	Darién	Hospitalizado	No	A7
	PAN007-RVh-2012	9 meses	Bocas del Toro	Hospitalizado	No	C50
	PAN008-RVh-2012	41 años	Metro	Ambulatorio	No	A15
	PAN009-RVh-2012	2 meses	Colón	Hospitalizado	No	A10
2013	PAN010-RVh-2013	2 meses	Chiriquí	-	No	C17
	PAN011-RVh-2013	6 meses	Herrera	-	No	A101
	PAN012-RVh-2013	1 año	Metro	Hospitalizado	No	A49
	PAN013-RVh-2013	8 meses	Bocas del Toro	Hospitalizado	No	A49
	PAN014-RVh-2013	9 días	P. Oeste	-	No	A15
	PAN015-RVh-2013	7 meses	Colón	Hospitalizado	No	B42
	PAN016-RVh-2013	2 meses	Los Santos	Hospitalizado	No	C5
	PAN017-RVh-2013	7 meses	Coclé	Hospitalizado	No	A12
	PAN018-RVh-2013	1 mes	Veraguas	Hospitalizado	No	A12
	PAN019-RVh-2013	1 mes	P. Oeste	Hospitalizado	No	A18
	PAN020-RVh-2013	1 mes	Metro	Hospitalizado	PIV-1	A21
	2014	PAN021-RVh-2014	2 años	Veraguas	Hospitalizado	No
PAN022-RVh-2014		1 año	Veraguas	Hospitalizado	No	A12

	PAN023-RVh-2014	6 meses	Metro	Hospitalizado	PIV-1	C15
	PAN024-RVh-2014	1 mes	Los Santos	Hospitalizado	No	C43
	PAN025-RVh-2014	1 año	Chiriquí	Hospitalizado	No	A51
	PAN026-RVh-2014	15 días	Metro	Hospitalizado	No	A47
	PAN028-RVh-2014	11 meses	Los Santos	Hospitalizado	No	C16
2015	PAN033-RVh-2015	18 días	Darién	Hospitalizado	No	A54
	PAN034-RVh-2015	1 mes	Los Santos	Hospitalizado	No	A24
	PAN035-RVh-2015	11 meses	Veraguas	Hospitalizado	No	C17
	PAN036-RVh-2015	6 meses	Metro	Hospitalizado	No	A12
	PAN037-RVh-2015	2 meses	Colón	Hospitalizado	PIV-3	A29
	PAN038-RVh-2015	4 meses	P. Oeste	Hospitalizado	ADV	C6
	PAN039-RVh-2015	5 meses	Metro	Hospitalizado	No	C6
	PAN040-RVh-2015	15 días	P. Este	Hospitalizado	RSV	C28
	PAN041-RVh-2015	1 año	Coclé	Hospitalizado	No	C51
2016	PAN042-RVh-2016	17 días	Herrera	Hospitalizado	No	A12
	PAN043-RVh-2016	4 meses	Veraguas	Hospitalizado	No	A11
	PAN045-RVh-2016	44 años	Veraguas	Ambulatorio	No	B84
	PAN046-RVh-2016	3 años	Coclé	Hospitalizado	No	C22
	PAN047-RVh-2016	29 años	Veraguas	Hospitalizado	No	A85
	PAN048-RVh-2016	1 año	Colón	-	No	A12
	PAN049-RVh-2016	16 años	Ngäbe Buglé	Ambulatorio	No	C47
	PAN050-RVh-2016	38 años	Metro	Hospitalizado	No	C15
	PAN051-RVh-2016	1 año	Coclé	Hospitalizado	No	C6
	PAN052-RVh-2016	1 año	Veraguas	Hospitalizado	No	C6

Insumos y procedimiento



Fig 1. Proceso de selección de muestras.



Fig 2. Kit comercial de extracción *MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit*.



Fig 3. Preparación de platos para proceso de extracción.

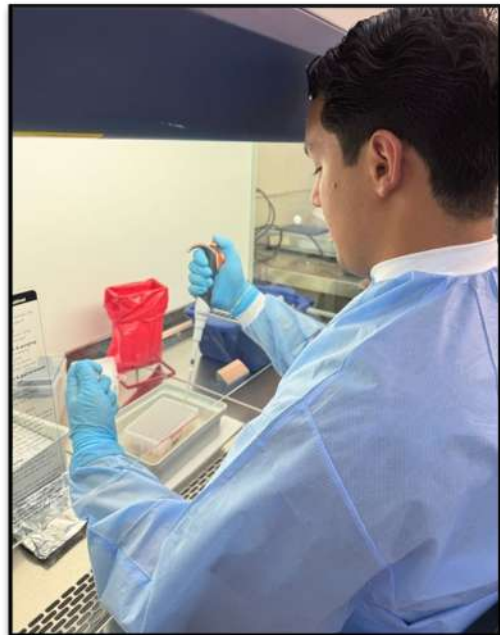


Fig 4. Adición de muestra al plato para extracción del ARN viral.

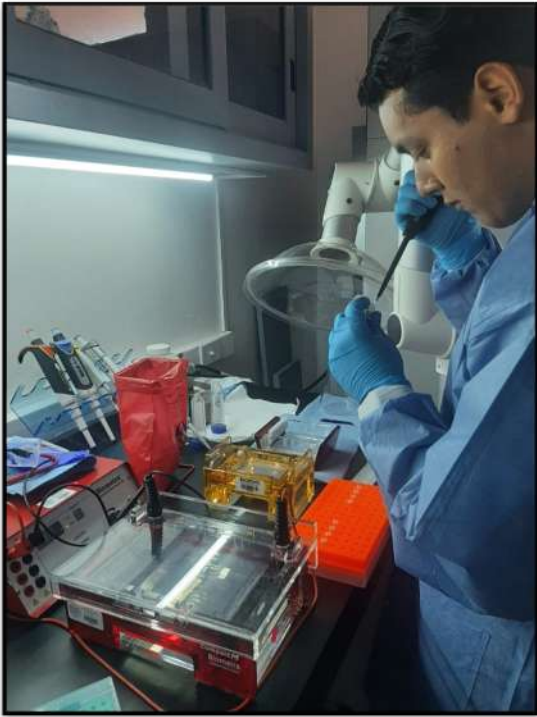


Fig. 5. Montaje de muestras en la cámara de electroforesis

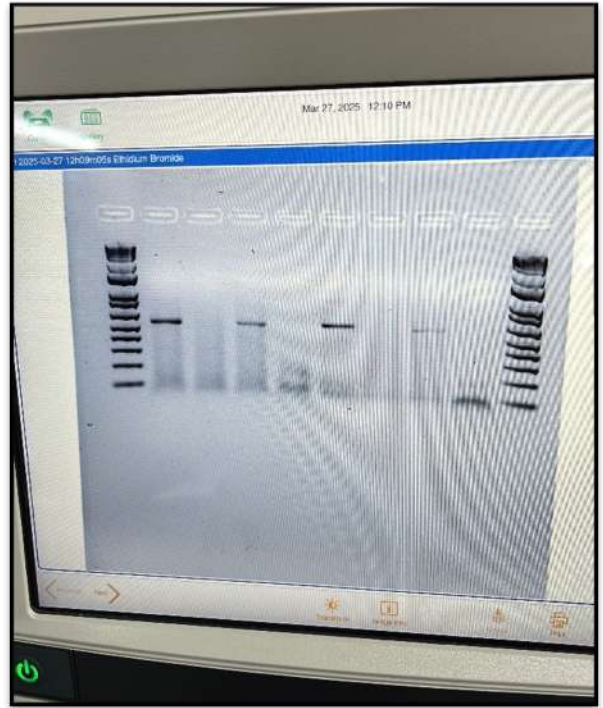


Fig. 6. Visualización de bandas en el fotodocumentador ChemiDoc Imaging System



Fig. 7. Preparación de la cabina de bioseguridad para la purificación del producto amplificado.



Fig. 8. QIAquick® PCR Purification Kit



Fig. 9 y 10. Productos obtenidos del proceso de purificación del material amplificado.



Fig. 11. Kit para secuenciación BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing



Fig. 12. BigDye XTerminator Purification kit.

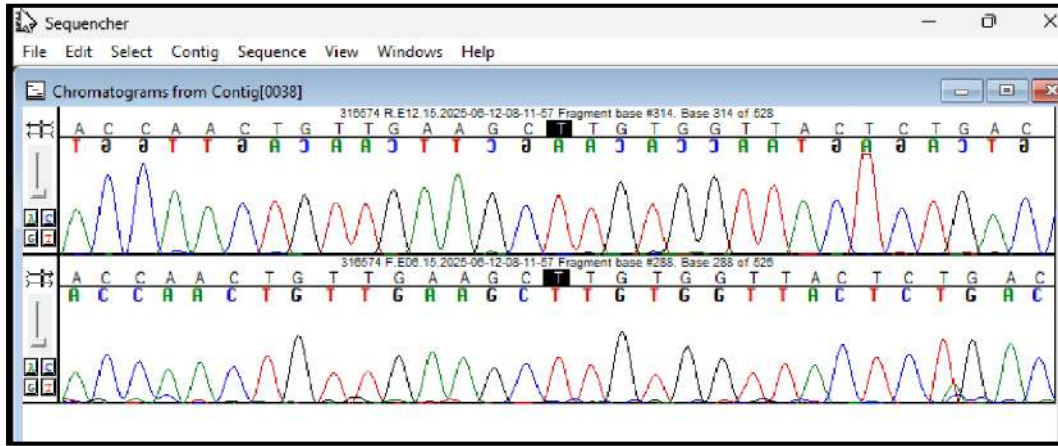


Fig. 13. Cromatograma de las secuencias analizadas en el programa sequencher

Equipos



Fig. 14. Termociclador *SimpliAmp*[™] de *Applied Biosystems*[™]

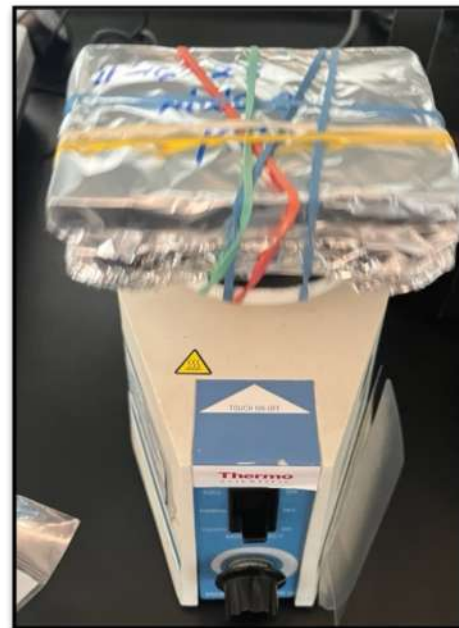


Fig. 15. Vortex de Thermo Scientific con producto purificación de reacción de secuenciación.



Fig. 16. Eppendorf Centrifuge 5804 R

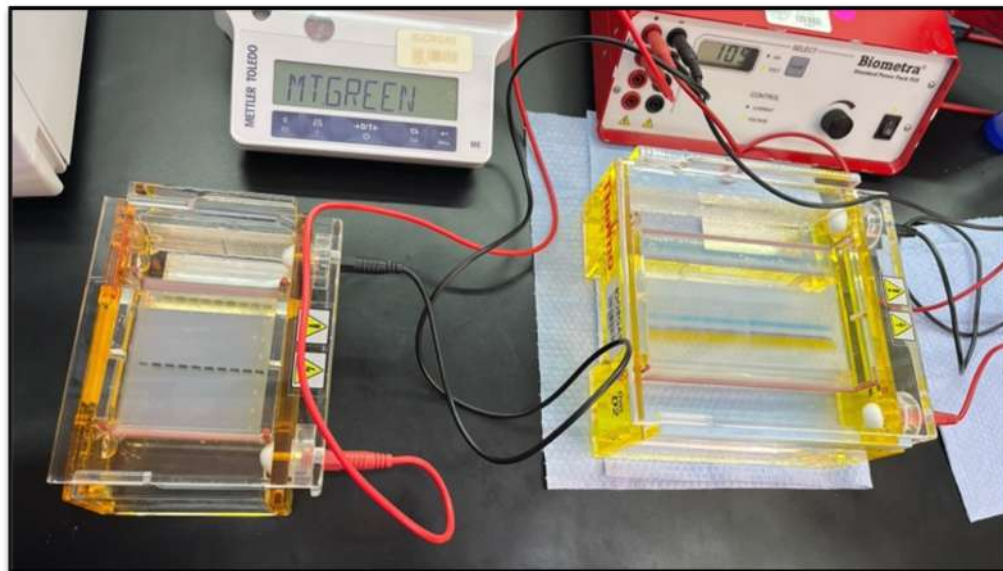


Fig. 17. Cámaras de electroforesis y fuente de poder