
Etiología viral de las infecciones respiratorias agudas.

Nereida Valero¹, Yraima Larreal¹, Francisco Arocha², Jennifer Gotera¹, Alibeth Mavarez¹, John Bermudez¹, Maria Moran¹, Merybell Maldonado¹ y Luz Marina Espina¹.

¹Sección de Virología, Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette” y

²Cátedra de Bacteriología y Virología, Escuela de Medicina.

Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Palabras clave: Infecciones respiratorias agudas, virus, cultivo celular, inmunofluorescencia directa.

Resumen. Las infecciones respiratorias agudas (IRA) son patologías que afectan el tracto respiratorio desde la faringe proximal hasta los pulmones, con una evolución de menos de 15 días y constituyen la causa más frecuente de morbimortalidad en el mundo. Con la finalidad de identificar los agentes virales asociados a este tipo de infecciones en pacientes del estado Zulia, Venezuela, entre febrero 2005 y julio de 2006, se estudiaron un total de 102 muestras provenientes del tracto respiratorio (hisopado nasal, faríngeo y/o nasofaríngeo, esputo y lavado broncoalveolar) de pacientes con clínica de IRA. El aislamiento viral se realizó a través del cultivo celular y la identificación del agente patógeno por la técnica de inmunofluorescencia directa. Se obtuvieron 46 muestras positivas (45%), la incidencia estuvo homogéneamente distribuida en todos los grupos de estudio aun cuando se observó predominio en el grupo de 41 a 64 años, seguido de los lactantes. No hubo diferencias significativas en cuanto al sexo. Dentro de los patógenos virales aislados el Virus Sincicial Respiratorio (VSR) fue el agente con mayor frecuencia (32,6%) ($p < 0,05$), seguido de Adenovirus (28,2%), Parainfluenza (23,9%) e Influenza (15,2%). Las infecciones respiratorias del tracto inferior fueron las más frecuentes (67,4%). Se demuestra una alta incidencia de agentes virales asociados a IRA en el estado Zulia. Se destaca la alta frecuencia en pacientes adultos y la mayor positividad para VSR.

Viral etiology of acute respiratory infections.

Invest Clin 2009; 50(3): 359 - 368

Key words: Acute respiratory infections, viruses, cellular culture, direct immunofluorescence.

Abstract: Acute respiratory infections (ARI) are pathologies that affect the respiratory tract from the proximal pharynx to the lungs, with an evolution of less than 15 days. They constitute the most frequent cause of morbimortality in the world. With the purpose of identifying the viral agents associated to this type of infections in patients of Zulia State, Venezuela, between February 2005 and July 2006, a total of 102 samples of the respiratory tract (oropharyngeal swab, nasopharyngeal swab, nasopharyngeal washing, spit and bronchoalveolar lavage) were studied. Viral isolation was made through a cellular culture and the identification of the pathogenic agents by the technique of direct immunofluorescence. Forty six positive samples were obtained (45%). The greater incidence was found in the groups of 41 to 64 years old patients, followed by lactating babies (1 to 23 months). There were no significant differences between sexes. Within the isolated viral pathogens, Respiratory Syncytial Virus (RSV) was the agent most frequently found (32.6% $p < 0.05$), followed by Adenovirus (28.2%), Parainfluenza (23.9%) and Influenza (15.2%). The respiratory infections of the low respiratory tract were the most frequent (67.4%). A high incidence of associated viral agents to ARI in Zulia State is demonstrated. A high incidence in adult patients and the greatest positivity was found for RSV.

Recibido: 27-07-2007. Aceptado: 19-03-2009.

INTRODUCCIÓN

Las Infecciones respiratorias agudas (IRA), son eventos de alta frecuencia en la población y se definen como toda afección que compromete una o más partes del aparato respiratorio, durante un lapso no mayor de 15 días (1). Aunque el principal origen de las IRA es viral y un porcentaje alto es autolimitado, son la primera causa de indicación de antibióticos en el mundo (2).

Las IRA se clasifican según el sitio anatómico afectado en altas y bajas, siendo la epiglotis el punto de separación de los dos tipos de patologías. Un solo sitio puede estar involucrado, no obstante la mayoría de las infecciones pueden involucrar a más de

un sitio. Entre las altas tenemos rinofaringitis, faringoamigdalitis, sinusitis, otitis media aguda, y como infecciones respiratorias bajas se incluye epiglotitis, laringitis, laringotraqueobronquitis (crup), bronquitis, bronquiolitis y neumonía (3, 4).

La incidencia global de las IRA en los países en desarrollo, se presenta entre 30 y 60% en niños, y se estima que cada niño sufre de 4 a 6 episodios cada año y cerca del 10% de éstos son severos y requieren hospitalización, lo que implica una demanda elevada de atención médica. Respecto a la mortalidad, se estima que las IRA son responsable de 4 millones de muertes anualmente en niños menores de 5 años, principalmente en países en vías de desarrollo

como Asia, África y América Latina (5, 6). En un estudio en 42 países en vías de desarrollo, la mortalidad fue del 14-24% en los menores de 5 años de edad. En los países desarrollados estas enfermedades también causan del 12 al 19% de las muertes infantiles, siendo la incidencia global de infección respiratoria similar para ambos, la diferencia radica en el mayor número de infecciones bajas graves (7-9).

En Venezuela la infección respiratoria representa un problema de salud pública relevante y es considerada como la principal causa de morbilidad en niños menores de 5 años. A finales del año 2006 según el Ministerio de Salud, ocupó la primera causa entre las enfermedades de denuncia obligatoria y fue motivo de consulta en 89.426 casos (10).

Las manifestaciones clínicas de las IRA pueden variar desde una sintomatología leve que desaparece en pocos días, a severa como: disnea, estridor, taquipnea, tiraje subcostal o intercostal, tos, otalgia, otorrea, rinorrea y obstrucción nasal, cianosis con o sin fiebre (4, 11, 20).

Usualmente, la combinación de la historia médica y el examen físico hace el diagnóstico clínico de las IRA, tanto bajas como altas y para conocer cuan severa es la enfermedad éste puede complementarse con exámenes de laboratorio de rutina y radiología, pero para determinar si el agente etiológico es de tipo viral, son necesarias técnicas de laboratorio específicas, entre ellas el inmunoensayo enzimático, el aislamiento en cultivos celulares e identificación por inmunofluorescencia, y la reacción en cadena de la polimerasa convencional (PCR) y PCR en tiempo real, que complementan dicho diagnóstico (12, 13). Las muestras de elección son secreciones respiratorias como: hisopado nasal o faríngeo, lavados o aspirados nasales, esputo y otras muestras del tracto respiratorio inferior, tomadas mediante lavado bronquioalveolar

(LBA) o del líquido pleural obtenido por punción (14, 15).

Las infecciones respiratorias pueden ser ocasionadas por una diversidad de agentes infecciosos, siendo los más importantes los virus. Estos pueden ser patógenos primarios de las vías respiratorias, replicándose solamente en las células ciliadas del tracto respiratorio o pueden infectar al aparato respiratorio como parte de una infección sistémica. Existe una gran variedad de cuadros clínicos asociados a estas infecciones, con distintos niveles de gravedad, desde resfriado común hasta procesos con afectación de vías respiratorias bajas, como la bronquiolitis y la neumonía, que pueden requerir en algunos casos la ventilación mecánica del paciente. Los agentes etiológicos relacionados con dichos cuadros son el Virus Sincicial Respiratorio (VSR), Parainfluenza, Adenovirus, Rinovirus, Enterovirus, Coronavirus y los más recientemente identificados Metapneumovirus, Bocavirus y Mimivirus. En general cualquiera de estos virus puede comprometer distintos niveles del aparato respiratorio, pero existe cierta selectividad de asociación entre algunos virus y ciertos síndromes clínicos (16-19).

En la actualidad a nivel mundial, las infecciones respiratorias son un problema de salud pública, por lo que es importante considerar los mecanismos de patogénesis, conocer el agente etiológico y los avances que se han logrado en el diagnóstico de éstos, de esta manera continuar fortaleciendo los esfuerzos que se han realizado para disminuir estas infecciones.

En la región zuliana las IRA ocupan el primer lugar de morbilidad (10), no obstante se conoce muy poco sobre agentes patógenos del aparato respiratorio y el comportamiento de los mismos, por no existir programas de vigilancia para la identificación de éstos; por lo antes expuesto, se planteó como objetivo principal identificar agentes virales en pacientes con IRA del Estado Zulia.

PACIENTES Y MÉTODOS

Tipo y diseño de la investigación

Se realizó un estudio descriptivo, transversal y prospectivo de pacientes que acudieron a la Unidad de Cuidados Respiratorios ubicada en un hospital público de referencia tipo IV y a tres centros de salud urbanos privados, todos con atención ambulatoria y hospitalaria. También se tomó muestra a los pacientes que acudieron a la consulta de la Sección de Virología del Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette” de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia. Todos los pacientes fueron atendidos por médicos adscritos al proyecto.

Población y muestra

En una muestra aleatoria se incluyeron en el estudio individuos de todas las edades, clasificados en niños según Quintero (21) y en adultos, según Cuminsky (22); sin distinción de sexo y condición social. Se procesaron un total de 102 muestras de pacientes con sintomatología clínica compatible con IRA alta y/o baja. El diagnóstico de las IRA se realizó sobre la base de los criterios habituales que maneja la OPS/OMS (20). En los casos de neumonía se realizó un examen radiológico para confirmar el diagnóstico.

El muestreo fue realizado durante el periodo de febrero 2005 a julio de 2006 y las muestras fueron procesadas en la Sección de Virología del Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette” de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia. A cada uno de los pacientes, se le registraron los datos en una ficha diseñada para la investigación de virus respiratorios, previo consentimiento por escrito tomando en cuenta las normas del Código de Bioética y Bioseguridad del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) (23) y del Comité de Bioética del Ins-

tituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette” de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia.

Se excluyeron del estudio todos los pacientes que presentaron algún tipo de enfermedad crónica, prematuridad, displasia broncopulmonar, fibrosis quística, reflujo gastroesofágico, anomalías congénitas del tórax, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), pacientes con cáncer de pulmón, inmunosuprimidos, y además los que estaban recibiendo tratamiento con anti-leucotrienos, y/o esteroides en los 15 días previos a la toma de muestra.

Recolección y procesamiento de las muestras

De acuerdo a la edad y colaboración de los pacientes, se tomaron muestras de hisopado faríngeo, nasal y/o nasofaríngeo, esputo y lavado nasofaríngeo, estas fueron colocadas en tubos con medio de transporte de Hank's. En aquellos pacientes hospitalizados con criterios clínicos de neumonía grave, médicos especialistas tomaron muestras de LBA. Las muestras fueron centrifugadas durante 15 minutos en frío a 1.500 xg, para obtener el sobrenadante el cual fue guardado a -70°C hasta su posterior procesamiento.

Aislamiento e identificación viral

El sobrenadante obtenido se inoculó en la línea celular Hep-2, posteriormente se incubó por una hora a 37°C con 5% de CO₂ para la adsorción del virus. Luego se incubó a 37°C al 5% de CO₂ durante 2-5 días, en medio MEM suplementado con antibiótico y 5% de suero fetal bovino, con observación microscópica periódica para visualizar algún efecto citopático indicativo de presencia de virus, a todas las muestras se les realizó identificación a través de la técnica de IFD con anticuerpos monoclonales específicos (Light Diagnostics™ Simulfluor® Respiratory Screen Kit, Chemicon Internacional, USA), y se consideraron positivas tomando

en cuenta los criterios de validación de la casa comercial con controles positivo y negativo de cada ensayo.

Análisis estadístico

El tamaño de la muestra analizada se calculó en base a una prevalencia estimada, utilizando la siguiente fórmula $n = Z^2 \times p \times q / e^2$, donde n: tamaño de la muestra; Z: coeficiente confianza; p: prevalencia; q: 1-prevalencia y e: error máximo admisible, obteniendo un valor mínimo aceptable de 73 muestras (24).

Los resultados obtenidos fueron expresados en valores absolutos y porcentajes. Se utilizó el Ji cuadrado y el test de corrección de Yates como pos-test, para el análisis de la significancia entre la infección y las variables de riesgo estudiadas, así como la frecuencia de los agentes patógenos identificados. Se tomó el 95% como índice de confiabilidad estadística y se consideró significativa toda $p < 0,05$.

RESULTADOS

De las muestras procesadas 46/102 (45%) resultaron positivas para aislamiento viral por técnicas de cultivo celular e inmunofluorescencia directa. El virus más frecuentemente aislado ($p < 0,05$) fue el VSR con 32,6% de positividad, Adenovirus 28,2%, Parainfluenza 23,9% e Influenza 15,2% (Tabla I).

Los pacientes estudiados estuvieron en un rango de edad comprendidas entre 6 meses y 77 años (X: 36 años). El mayor número de muestras fue obtenido en adultos jóvenes de 20 a 40 años (26,4%). La incidencia estuvo homogéneamente distribuida en todos los grupos etarios; sin embargo se observó un predominio en el grupo de edad de 41 a 64 años (61,9%), seguido por los de 1 a 23 meses (57,1%). Con relación al sexo no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla II).

TABLA I
INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS
SEGÚN AGENTE VIRAL IDENTIFICADO

Agente etiológico	Casos positivos	
	n	%
Virus Sincitial Respiratorio	15	32,6*
Adenovirus	13	28,2
Virus Parainfluenza	11	23,9
Virus Influenza	7	15,2
Total	46	100

* $p < 0,05$ con respecto a virus Influenza.

En la Tabla III se clasifican a las IRA según el sitio anatómico afectado, en altas y bajas, predominando las IRA bajas con un 67,4% de positividad para agentes virales. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre las IRA bajas, causadas por VSR con respecto a las IRA por Influenza de ese mismo grupo ($p < 0,05$).

El principal diagnóstico clínico fue neumonía (41,1%), sin embargo en los pacientes con bronquitis se identificó el mayor porcentaje de virus (62,5%). En los casos de crup se obtuvo aislamiento viral en un 33,3%. En las IRA altas predominó rino-faringitis (16,6%). Los síntomas más frecuentes fueron, tos (60,8%), fiebre (56,5%), odinofagia (47,8%), disnea (41,3%) y rinorrea (36,9%). Cuando se evaluó la gravedad de los casos se encontró que 47,8% de ellos eran leves. Se auscultaron sibilantes sugestivos de broncoespasmo en 11 pacientes (10,7%), de éstos 54,5% fueron positivos para VSR, observándose una diferencia estadística ($p < 0,001$) con respecto a Adenovirus, Parainfluenza e Influenza (Datos no tabulados).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran una alta frecuencia de agentes virales (45%) como causa de IRA

TABLA II
INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS SEGÚN GRUPOS DE EDAD Y AGENTE ETIOLÓGICO VIRAL

Grupo de Edad	Total		VSR		Adenovirus		Parainfluenza		Influenza		Total	
	n	%	+	%	+	%	+	%	+	%	+	%
1-23 meses Lactantes	7	6,8	0	0	2	28,5	0	0	2	28,5	4	57,1
2-6 años Pre-escolar	20	19,6	2	10	4	20	2	10	1	5	9	45
7-14 años Escolar	12	11,7	1	8,3	0	0	1	8,3	1	8,3	3	25
15-19 años Adolescentes	8	7,8	0	0	0	0	1	12,5	0	0	1	12,5
20-40 años Adultos Jóvenes	27	26,4	6	22,2	2	7,4	3	11,1	2	7,4	13	48,1
41-64 años Adultos medios	21	20,5	5	23,8	5	23,5	2	9,5	1	4,7	13	61,9
65 y más Tercera edad	7	6,8	1	14,2	0	0	2	28,5	0	0	3	42,8
Total	102	100	15	14,7	13	12,7	11	10,7	7	6,8	46	45,0

TABLA III
INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS SEGÚN LOCALIZACIÓN ANATÓMICA Y AGENTE VIRAL IDENTIFICADO

Infección Respiratoria Aguda (IRA)	Total		VSR		Adenovirus		Parainfluenza		Influenza		Total	
	n	%	+	%	+	%	+	%	+	%	+	%
IRA Alta	41	40	3	20	6	46	3	27,2	3	42,8	15	32,6
IRA Baja	61	60	12*	80	7	54	8	72,7	4	57,1	31	67,4
Total	102	100	15	14,7	13	12,7	11	10,7	7	6,8	46	45

* p < 0,05 con respecto a *influenza* de las IRA bajas.

en pacientes del estado Zulia, siendo el VSR el principal patógeno aislado en la población evaluada seguido de Adenovirus, Parainfluenza e Influenza.

En un estudio realizado en el Instituto Nacional de Higiene (25), entre 1998 y 2004, donde analizaron por inmunofluorescencia indirecta (IFI), Elisa e inhibición de la hemaglutinación 1479 hisopados nasales, no detectaron VSR, contrario a los resultados del presente estudio. En ese estudio prevaleció la infección por Influenza tipo A (84%), Parainfluenza 1 (6,3%), Adenovirus (4,5%) y Parainfluenza 2 (0,2%). Por otra parte, similar a la presente investigación, Sequeira y col. (26), encontraron que el VSR fue el principal agente causal de IRA, estando su presencia asociada principalmente a neumonía. Igualmente Bellinzona y col. (27), en Uruguay, encontraron un buen porcentaje de positividad al VSR (50%), seguido por Adenovirus (9,2%), Influenza (7,4%) y Parainfluenza (5,5%), solo que en este estudio se encontró como signo predominante la disnea (96,3%), a diferencia del presente donde prevalecieron tos (60%) y fiebre (56,5%).

En relación a la edad de los pacientes y el agente viral identificado, se pudo observar que éstos fueron identificados en todos los grupos de edad, no obstante, se obtuvo un porcentaje relativo mayor en adultos, seguido de los lactantes y niños en edad pre-escolar, similar a lo referido por Rosete y col. (4). Además, este hallazgo concuerda con lo reportado por Papadopoulos y col. (28), quienes destacan al VSR como la primera causa de bronquiolitis y de hospitalización secundaria a las IRA, no solo en niños menores de 2 años si no también como causa importante de infección respiratoria grave en ancianos, inmunocomprometidos y en adultos sanos.

Manjarrez y col. (29) en un estudio realizado en México con 145 pacientes, obtuvieron un porcentaje de positividad para

Adenovirus del 13,6% en niños y adultos jóvenes respectivamente y de 9,4% en mayores de 50 años. En este estudio prevaleció en edades extremas, lactantes (28,5%) y pacientes adultos de 41 a 64 años (23,5%). Parainfluenza resultó mas frecuente en pacientes de la tercera edad (28,5%). En la India (30) se encontró una positividad viral un poco menor a la obtenida en este estudio y los virus aislados fueron VSR (5%) Parainfluenza (5%) Influenza (4%) Adenovirus (3%) y Sarampión (3%), neumonía también fue la patología más diagnosticada, seguido por faringitis.

Con respecto al diagnóstico clínico, Louie y col. (31) observaron predominio de infecciones respiratorias bajas, seguido por sinusitis y faringitis, con predominio de Influenza A y B (54%), Rinovirus (28%), VSR (12%), Metapneumovirus (9%), Coronavirus y Adenovirus (2%). En este estudio también prevalecieron las IRA bajas, siendo la neumonía el principal diagnóstico clínico; sin embargo se demostró predominancia de etiología viral en los casos de bronquitis (62,5%), faringitis (57,1%) y neumonía (47,6%).

Es importante señalar que aunque se diagnosticó clínicamente un 16,6% de rino-faringitis o resfriado común, sólo fue posible aislamiento viral en un 29,4%. Esta entidad esta asociada principalmente a infección por Rinovirus (4), en este estudio se presentó limitaciones en la adquisición de reactivos para la identificación de este agente viral y de otros como Metapneumovirus, Coronavirus y Mimivirus, así como la utilización de técnicas de biología molecular con la PCR (13, 32).

Un hallazgo no esperado fue el bajo porcentaje (33,3%) de aislamiento viral en los casos de crup, relacionado frecuentemente con infección por parainfluenza y VSR (4), sería importante considerar un mayor número de casos con esta enfermedad para realizar un diagnóstico etiológico

representativo de la muestra. También se destaca la ausencia de diagnóstico viral en los casos de faringoamigdalitis, relacionada ésta con Adenovirus y *Streptococcus pyogenes* (33).

Es significativo resaltar que el 10,7% del total de los casos con aislamiento viral positivo, presentaron sibilantes, sugestivo de broncoespasmo; el agente viral principalmente asociado a este signo fue VSR (54,5%), lo cual resultó estadísticamente significativo en comparación con el resto de los virus aislados.

Debido a la alta morbimortalidad del asma y su actual relación con las infecciones virales, se decidió profundizar en esta asociación. Los virus están presentes en el 80% de la exacerbación de asma en niños y entre 30 y 40% en los adultos, los mayormente asociados son VSR, Rinovirus y Parainfluenza (34). En cuanto al VSR considerado uno de los principales productores de IRA en infantes y pre-escolares, se ha asociado también con la presencia de asma en adultos (35, 36).

La asociación entre VSR y broncoespasmo puede explicarse por mecanismos inmunológicos, inflamatorios y no inflamatorios. En los lactantes las infecciones víricas, particularmente por el VSR provocan la aparición de sibilancias (37). En niños y adultos con asma preexistente, las infecciones respiratorias virales son una causa frecuente de exacerbaciones. Así, se encuentra que aproximadamente el 60% de estas se ven precedida de una infección viral y según Micillo y col. (38), el virus más frecuentemente involucrado es el Rinovirus.

La infección por VSR sin duda alguna produce una exacerbación de asma y la presencia de sibilancias, esto es mediado probablemente por mecanismos no alérgicos relacionado con el aumento de productos como mieloperoxidasa y elastasa, además de interleucina 8 y otras citocinas y mediadores inflamatorios como los leucotrienos a

pesar de que estudios en roedores (39) indican que la infección por VSR aumenta los niveles de IgE, sin embargo la mayoría de los estudios (40) no demuestran que los infantes con infección por VSR y bronquiolitis presentan una mayor incidencia de asma atípica, a menos que estos tengan una predisposición familiar.

En conclusión las IRA constituyen un complejo y heterogéneo grupo de entidades patológicas, donde los agentes virales representan un porcentaje importante. El diagnóstico confirmatorio de laboratorio es de vital importancia, además de confirmar la prevalencia viral, es necesario continuar a la búsqueda de factores de riesgo, mejorar los programas de prevención y evitar el manejo inadecuado de estos pacientes.

AGRADECIMIENTO

A los pacientes que colaboraron para la realización de este trabajo. Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) y a la Fundación para el Desarrollo de Ciencia y la Tecnología en el estado Zulia, FUNDACITE Zulia, por el financiamiento otorgado.

REFERENCIAS

1. **Infecciones Respiratorias Agudas** Disponible en: URL: http://geosalud.com/enfermedades_infecciosas/IRA.htm.
2. **Razón B.** Prevención de las infecciones respiratorias agudas: Presente y futuro. *Rev Cub Pediatr* 2003; 75(4):3-51.
3. **Arango M, Reyes E, Aristizabal G, Leal D.** Crup y epiglotitis. *Neumología Pediátrica*. 3a Edición. Edit. Médica Panamericana; 2002, p 223.
4. **Rosete D, Archundia F, Cabello C, Manjarez M.** Patogenia de las infecciones respiratorias por virus. *Rev Inst Nat Enf Resp Mex* 2002; 15(4): 239-254.
5. **Aldana RS, Coria J, Bustos E, Espinosa L, Karam J.** Infecciones Respiratorias agudas

- en menores de 5 años. 2001. *Práctica Médica Efectiva* 2001; 3(7): 1-5.
6. **Giachetto G, Martínez M, Montano A.** Infecciones Respiratorias Agudas bajas de causa viral en niños menores de dos años. Posibles factores de riesgo de gravedad. *Arch Pediatr Urug* 2001; 72(3):206-210.
 7. **Sodestrom M, Hovelius B, Prellner K.** Respiratory tract infections in children with recurrent episodes as preschoolers. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80:688-695.
 8. **Chonmaitree T, Mann L.** Respiratory infections. En: Rottbart HA. editor. *Human Enterovirus infections*. Washington: ASM Press. 1995. p 255-70.
 9. **Rodríguez-Tamayo R, Sánchez-Tarragó N.** Infecciones Respiratorias Agudas: Aspectos clínicos y epidemiológicos. *Reporte Técnico de Vigilancia* 2000; 5(7):1028-1038.
 10. **Boletín Epidemiológico del Ministerio de Salud.** Venezuela. *Semana Epidemiológica* N° 50. 2006. p 18.
 11. **Aristizabal G.** Infección respiratoria aguda, el porque de un programa y enfoque básico del mismo. En: *Neumología Pediátrica*. 3a Ed. Edit. Médica Panamericana; 1998, p157.
 12. **Weinberg GA, Erdman DD, Edwards KM, Hall CB, Walker FJ, Griffin MR.** Superiority of reverse-transcription polymerase chain reaction to conventional viral culture in the diagnosis of acute respiratory tract infections in children. *J Infect Dis* 2004; 189:706-710.
 13. **Erdman DD, Weinberg GA, Edwards KM.** GeneScan reverse transcription-PCR assay for detection of six common respiratory viruses in young children hospitalized with acute respiratory illness. *J Clin Microbiol* 2003; 41:4298-303.
 14. **Clements S, Spitzer E, Nomani NK, Musser JM.** Acute Respiratory Infection in the Developing World: strategies for prevention and treatment. *J Infection Diseases* 1999; 6:622-629.
 15. **Johnston S, Siegel C.** Evaluation of direct immunofluorescence, enzyme immunoassay centrifugation culture, and conventional culture for the detection of respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol* 1990; 28(11):2394-2397.
 16. **García-García, ML, Calvo-Rey C, Pozo-Sánchez F, Vázquez-Álvarez MC, González-Vergaza A, Pérez-Breña P, Casas-Flecha I.** Infecciones por Bocavirus humano en niños españoles: características clínicas y epidemiológicas de un virus respiratorio emergente. *An Pediatr* 2007; 67(3):212-219.
 17. **Artiles-Campelo F, Pérez-González M, Caballero-Hidalgo A, Pena-López M.** Diagnóstico etiológico de las infecciones respiratorias agudas de origen vírico en un hospital pediátrico de Gran Canaria. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24 (9):556-561.
 18. **Johnston SL.** Impact of viruses on airway diseases. *Eur Respir Rev* 2005; 14:57-61.
 19. **Raoult D, La Scola B, Birtles R.** The discovery and characterization of Mimivirus, the largest known virus and putative pneumonia agent. *Clin Infect Dis* 2007; 45:95-102.
 20. **Organización Mundial de la Salud.** Normas de Infecciones Respiratorias Agudas. IRA. En el niño menor de cinco años para el Primer Nivel de Atención. 4ª ed. Montevideo: Ministerio de Salud Pública, 1997.
 21. **Quintero R.** Crecimiento y desarrollo psicológico al niño venezolano. *Puericultura Atención Primaria en Salud* infanto-juvenil. Ediciones Psicopediátricas. Maracaibo. Ediluz. 2001, p 7-10.
 22. **Cuminsky M; Lejarraaga H; Mercer R; Marrrell M; Fescina R.** Manual de Crecimiento y Desarrollo del Niño. Oficina Panamericana Sanitaria. 2da Edición. Senel Pal Tex 1994; 33:3-137.
 23. **Briceño E, Suarez E, Michelangi C, Feliciangeli D, Otaiza E, Mendible J, Villalon M, Ceballo H, Godoy J.** Código de Bioética y Bioseguridad. Capítulos 2 y 3. Ministerio de Ciencia y Tecnología (FONACIT). 2da Edición. 2002. Venezuela.
 24. **Herrera-Rodríguez D, De la Hoz F, Mariño C, Ramírez E.** Virus Respiratorios en Menores de Diez Años con Infección Respiratoria en el Hospital Militar Central de Bogotá 2000-2001. *Rev. Salud Pública* 2007; 9(4):576-586.
 25. **Girón B, Hernández R, Morón D, Álvarez M, Barreto A, Cáceres B.** Identificación de

- los virus respiratorios circulantes en Venezuela (Resumen). Memorias de las XXIX Jornadas Venezolanas de Microbiología, 2005. Cumaná. Estado Sucre.
26. **Sequeira M, Zerbini E, Imaz M, Veronessi I, Latin O, Cociglio R, Pierini J.** Etiología de las infecciones del tracto respiratorio inferior en niños menores de 5 años en Santa Fe. *Medicina* 1997; 57(2):191-199.
 27. **Bellinzona G, Rubio I, Ascione A, Finkelstein R, Glaussius G, Klein M, Roldán E, Pose G, Chiparelli H, Sandin D, Cucchi S, Cánepa E.** Infección respiratoria aguda en niños menores de 24 meses: el diagnóstico virológico integrado a la práctica clínica. *Rev Med Urug* 2000; 16(1):18-23.
 28. **Papadopoulos N, Gourgiotis D, Javadyan A, Bossios A, Kallergi K, Psarras S, Tsolia M, Kafetzis D.** Does respiratory syncytial virus subtype influences the severity of acute bronchiolitis in hospitalized infants? *Respir Med* 2004; 98(9):879-882.
 29. **Manjarrez M, Rosete D, Navas A, Santiago J, Calderón I, Chapela R.** Adenovirus en un grupo de pacientes con infección respiratoria aguda. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 2002; 15(2):64-68.
 30. **Jain A, Pande A, Misra P, Mathur A, Chaturvedi U.** An Indian hospital study of viral causes of acute respiratory infection in children. *J Med Microbiol* 1991; 35(4): 219-223.
 31. **Louie J, Hacker J, Gonzales R, Mark J, Maselli J, Yagi S, Drew W.** Characterization of viral agents causing acute respiratory infection in a San Francisco University Medical Center Clinic during the influenza season. *Clin Infect Dis* 2005; 41(6):822-828.
 32. **Weinberg GA, Erdman DD, Edwards KM, Hall CB, Walker FJ, Griffin MR.** Superiority of reverse-transcription polymerase chain reaction to conventional viral culture in the diagnosis of acute respiratory tract infections in children. *J Infect Dis* 2004; 189:706-710.
 33. **Guía de atención de la Infección Respiratoria Aguda de la dirección general de prevención y promoción del Ministerio de salud de la República de Colombia.** Disponible en: URL <http://eserosalpi.gov.co>.
 34. **Gelfand E.** Respiratory Viral Infections and Asthma: Is There a Link?. *Pulmonary Medicine e Journal* 2000; 4(4):43-57.
 35. **Sanguinetti S, Raina R, Batthyáni L, Santander A, Rubio I, Chiparelli H, Varela A, Mateos S.** Infección respiratoria aguda por virus sincicial respiratorio en niños hospitalizados menores de dos años. *Arch Pediatr Urug* 2000; 71:1-4.
 36. **Valero N, Estévez J, Arocha F, Rincón E, Añez F, Espina LM, Meleán E, Larreal Y, Maldonado M, Arias J, Añez G.** Contribución del Virus Sincicial Respiratorio y Bacterias a la presencia de Asma en una población adulta. *Interciencia* 2005; 30(6):356-360.
 37. **Fraenkel DJ, Bardin PG, Sanderson G, Lampe F, Johnston SL, Holgate ST.** Lower airway inflammation during rhinovirus colds in normal and asthmatic subjects. *Am J Resp Crit Care Med* 1995; 151:879-886.
 38. **Micillo E, Marcatili P, Palmieri S, Mazzarella G.** Viruses and asthmatic syndromes. *Arch Chest Dis* 1998; 53(1):88-89.
 39. **Everard-Mark L.** Relationship between respiratory syncytial virus infections and the development of wheezing and asthma in children. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006; 6(1):56-61.
 40. **Park J, Barnett D.** Respiratory Syncytial Virus infection and the primary care physician. *South Med J* 2002; 95(3):353-359.