

FRECUENCIA DE APARICION DEL VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO (VSR) EN NIÑOS CON SINTOMATOLOGIA COMPATIBLE CON BRONQUIOLITIS EN CUATRO HOSPITALES PEDIATRICOS DE BOGOTA

Salim Mattár , Jacqueline Chacón, Janeth Hernández ¹

Se determinó la frecuencia de aparición del virus sincital respiratorio (VSR) a partir de 61 muestras de secreción nasofaríngea, de pacientes pediátricos que presentaron sintomatología compatible con bronquiolitis. Las muestras fueron obtenidas en los servicios de urgencias o de hospitalización del hospital El Tunal, hospital Infantil Lorencita Villegas de Santos, la Clínica del Niño y El hospital La Misericordia en Bogotá.

La detección del antígeno del virus sincital respiratorio se efectuó por las técnicas inmunoenzimáticas ELISA: Directigen-BBL y TestPack-Abbot. De las 61 muestras analizadas, 37 fueron positivas para el antígeno del VSR (61%).

Se relacionó la frecuencia de aparición del VSR con respecto al sexo, de las 37 muestras positivas 21 fueron niños (57%) y 16 fueron niñas (43%). También, se correlacionó la frecuencia de aparición del VSR con base en la edad (meses) de los pacientes, y se observó que a mayor edad era menos frecuente encontrar VSR en las muestras. De otro lado, respecto a la relación entre la condición social de los pacientes y la aparición del antígeno del VSR, se detectó con más frecuencia en aquellos pacientes de escasos recursos económicos.

Los resultados preliminares de este trabajo evidencian una alta frecuencia de aparición del VSR en pacientes pediátricos con sintomatología compatible con bronquiolitis, demostrando que es el principal agente causal de dicha enfermedad en los cuatro hospitales de Bogotá estudiados.

INTRODUCCION

El virus sincital respiratorio (VSR) es una de la principales causas de infección del tracto respiratorio bajo, en niños de 0-24 meses de edad, en los que produce, entre otros, cuadros de bronquiolitis (1).

Este virus es además responsable de infecciones nosocomiales y es necesario tener presente su capacidad para producir infecciones oportunistas (1, 2). La bronquiolitis en lactantes y niños es considerada como una enfermedad de riesgo severo ya que tiene un alto porcen-

¹ Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Departamento de Microbiología. Unidad de Microbiología Especial y Enfermedades Infecciosas. Santafé de Bogotá D.C. Colombia.

taje de morbilidad y un porcentaje no menos importante de mortalidad dentro de la población infantil (2, 3).

La bronquiolitis esta asociada con la aparición del VSR como lo demostró Miller y colaboradores (4) en un estudio realizado en Canadá. En ese trabajo se demostró, además, la utilidad de las técnicas de ELISA para la detección del antígeno (Ag) en secreciones nasofaríngeas.

En otros países se han realizado algunos estudios sobre la prevalencia del VSR (2, 5, 6). En un intento por llevar a cabo un estudio preliminar sobre el VSR se realizó nuestro trabajo, siendo el más reciente realizado en Colombia, con el cual se determinó la frecuencia de aparición del VSR en niños menores de dos años con sintomatología respiratoria compatible con bronquiolitis.

Se tomaron 75 lavados nasofaríngeos de diferentes hospitales en Bogotá: Hospital El Tunal, Hospital La Misericordia, Clínica del Niño y el Hospital Infantil Lorencita Villegas de Santos. Estas muestras fueron utilizadas para detectar el Ag del VSR por la técnica de ELISA.

Además de la importancia epidemiológica que tiene la detección del VSR, la posibilidad de establecer un tratamiento específico con ribavirina justifica aún más la necesidad de identificar con rapidez el agente causal, máximo cuando la efectividad del tratamiento depende de su pronta identificación.

La epidemiología del VSR en Colombia es poco conocida debido a la falta de estudios sobre su comportamiento en nuestro medio por lo cual se hace necesario un estudio epidemiológico preliminar. Para este fin, se utilizó una escala de medición de tipo nominal, dicotómica, la cual establece dos parámetros: ausencia o presencia de una característica específica. Esta medición epidemiológica determinó la frecuencia de aparición del VSR en una población infantil procedente de cuatro hospitales de Bogotá.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que el 61% de la población estudiada fue positiva para el VSR.

MATERIALES Y METODOS

Pacientes y centros de estudios

Se recolectaron 75 muestras de aspirados nasofaríngeos en niños de 0 a 2 años de edad entre los meses de enero y abril del presente año. Los centros involucrados en este trabajo y el aporte de pacientes fueron: Clínica Pediátrica Jorge Bejarano (n=14), Hospital Infantil Lorencita Villegas de Santos (n=15), Hospital El Tunal (n=21) y Hospital La Misericordia en Bogotá (n=11).

De las 75 muestras recolectadas se excluyeron 14 por presentar aspecto sanguinolento, las cuales no fueron procesadas ya que pueden presentar interferencias en el momento de realizar la ELISA, dando resultados falsos negativos o inespecíficos según las instrucciones del fabricante. Por esta razón, solamente fueron incluidos en este estudio 61 muestras de secreción nasofaríngea.

Criterios clínicos de inclusión

Los niños presentaron signos y síntomas compatibles con bronquiolitis: dificultad respiratoria, taquipnea, hipoxemia e hipercapnia: en ocasiones, retracciones intercostales, subcostales y sibilancias. El examen radiológico presentaba hiperinsuflación, diafragmas descendido e hiperclaridad del parénquima. Los niños involucrados en el estudio presentaron un recuento total leucocitario de glóbulos blancos aumentados y un recuento diferencial con linfocitos elevados (1).

Preparación y obtención de las muestras

Entre los tipos de muestras aceptables se incluyen aquellas en las cuales se puede detectar la presencia del antígeno (Ag) VSR, como lavados, torundas y aspirados nasofaríngeos (frescos o congelados), así como aspirados traqueales. Sin embargo, las muestras preferidas para detectar este antígeno son los lavados y aspirados nasofaríngeos ya que se ha observado que son mejores que las torundas (7-10).

En este trabajo, a los pacientes seleccionados se les aspiró moco de la nasofaringe. Para facilitar la obtención de una muestra con mayor

cantidad de antígeno, se micronebulizaron los pacientes con solución salina normal mezclado con un broncodilatador en solución para nebulizar. Las muestras recolectadas tuvieron un volumen total de 3 a 4 ml aproximadamente, ya que un excesivo volumen de lavado puede afectar negativamente el rendimiento de la prueba (5).

Transporte de muestras

Las muestras, después de recolectarse en los respectivos lugares de procedencia, se trasladaron rápidamente utilizando un medio de transporte líquido (solución salina tamponada con fosfato (PBS), mantenido de 2 a 8°C; se procesaron en la Universidad Javeriana en el laboratorio de microbiología especial inmediatamente a su arribo.

Método

Se utilizó la técnica inmunoenzimática ELISA, seleccionada por mostrar una alta sensibilidad (94%) y especificidad (95%) frente a la inmufluorescencia y el cultivo celular (4-15).

Para el desarrollo de este trabajo, se utilizaron dos presentaciones diferentes de ELISA: Directigen VSR (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, Md USA) y Test-Pack (Abbott Diagnostics, Chicago, ILL USA). Ambos métodos emplean una membrana filtrante sobre la cual se absorbe la muestra. El antígeno es detectado por un conjugado compuesto por una enzima (fosfatasa alcalina) y un anticuerpo monoclonal (anti-VSR bovino) dirigido contra la nucleoproteína y la proteína de fusión. Luego, el resultado se evidencia al adicionar un sustrato (p-nitrofenilfosfato) que desarrolla un color púrpura característico de la reacción.

Procedimiento de la prueba

Las dos presentaciones de ELISA utilizadas para el desarrollo de este trabajo presentaron similitud en el procedimiento; diferenciándose únicamente en el volumen de muestra utilizada y la técnica para eliminar el exceso de moco.

El protocolo básico para las dos técnicas es como sigue:

1. Se adicionó a la muestra clarificada tres gotas de una solución que contenía el anticuerpo monoclonal (anti VSR bovino con biotina). Se dejó incubar a temperatura ambiente durante diez minutos.
2. La mezcla anterior se depositó sobre la membrana del dispositivo, donde el antígeno se fija en la superficie de la membrana.
3. Se adiciono enseguida el conjugado (anti IgG de conejo con fosfatasa alcalina), dejando a temperatura ambiente por tres minutos.
4. Posteriormente se lavó con buffer fosfato y tween 20.
5. Luego se adicionó el sustrato (p-nitrofenilfosfato) dejándolo incubar durante dos minutos a temperatura ambiente.
6. Finalmente se detuvo la reacción con H₂SO₄ 1N.

Interpretación

Las dos técnicas se leyeron por la aparición de un color púrpura característico.

Directigen: la prueba negativa se evidenció por la presencia de un punto en la superficie de la membrana. La prueba positiva se evidenció por presencia de un triángulo en la superficie de la membrana.

Test-Pack: la prueba negativa se demostró por la presencia de un signo negativo en la superficie de la membrana. La prueba positiva se evidenció por la presencia de un signo positivo en la superficie de la membrana.

Controles

Los controles utilizados para las dos técnicas de ELISA (Directigen y Test-Pack) fueron los mismos.

Control positivo: se utilizó el control positivo de VSR que viene incluido en los kits (antígeno VSR tratado con detergente). Se procesó un control positivo por cada lote de pruebas.

Control negativo: se utilizó control negativo que viene incluido en los kits (Células Hep 2 no infectadas con detergente).

Análisis estadístico

Considerando las variables de la población objeto de análisis: niños menores de dos años de edad de diferentes hospitales de Bogotá y muestras nasofaríngeas para la detección de antígeno del VSR, se procedió a realizar un examen estadístico donde se analizó el porcentaje de infantes que estaban infectados (P) y el porcentaje de quienes no lo estaban (Q).

Las variables que se consideraron fueron:

- Edad (meses).
- Sexo.
- Hospital de procedencia.
- Recuento leucocitario.
- Recuento diferencial leucocitario
- Número de muestras positivas por sitio de procedencia.

Tamaño de la muestra

Para su determinación, se tuvo en cuenta los objetivos y las circunstancias de la investigación, aspectos no estadísticos (personal, muestreo y costos) y estadísticos (incidencia de la enfermedad).

De acuerdo con los datos suministrados por los centros involucrados en este estudio, los 61 pacientes seleccionados se clasificaron según el sitio de procedencia. Además, con base endatos, estrictamente clínicos suministrados por los pediatras, se estableció que aproximadamente el 15% de los pacientes atendidos durante el año de 1992 presentaron infección respiratoria baja (bronquiolitis).

Este porcentaje permitió establecer que el 61 secreciones nasofaríngeas cubrían el 93% de la población objeto, con un error máximo permisible del 7%. Empleando la aproximación normal a la distribución binomial, la cual presentó la prevalencia y precisión deseada del

93%, se obtuvo un valor estadístico Z de 1,50 (16, 17).

Las técnicas estadísticas utilizadas fueron:

- Medidas de tendencia central: promedios, valores modales, coeficientes de variación, curva normal, curtosis.
- Medición probabilística con aplicación del Binomio Newton y pruebas hipotéticas que muestren resultados de probabilidad de infección o no infección de muestra universal o parcial de diferentes hospitales de donde proceden las muestras.

RESULTADOS

El estudio epidemiológico enfocado hacia la determinación de la frecuencia de aparición del VSR, dentro de un sector de la población infantil en Bogotá, demostró que el VSR es el principal causante de bronquiolitis en diferentes hospitales. De un total de 61 muestras analizadas, 37 fueron positivas (61%) para el Ag del VSR. En el Hospital Lorencita Villegas de Santos de 15 muestras analizadas, 6 fueron positivas (40%) para el antígeno VSR; en el Hospital de El Tunal, de 21 muestras, 16 fueron positivas (76%) en el Hospital de; La Misericordia de 11 muestras, 8 fueron positivas (73%) y en la Clínica del Niño de 14 muestras, 7 fueron positivas (50%) (tabla 1, figura 1).

TABLA 1. Hospitales y pacientes positivos a la prueba de Elisa para la detección de Antígeno

	PACIENTES No. (%)	POSITIVOS No. (%)
Hospital de El Tunal	21 (34)	16 (76)
Hospital. Infantil Lorencita Villegas de Santos	15 (25)	6 (40)
Clínica del Niño	14 (23)	7 (50)
Hospital de La Misericordia	11 (18)	8 (73)
TOTAL	61 (100)	37 (61)

FIGURA 1. INFORMACION DE LOS CENTROS INVOLUCRADOS EN EL ESTUDIO DEL VSR Y SU PARTICIPACION EN PORCENTAJE.

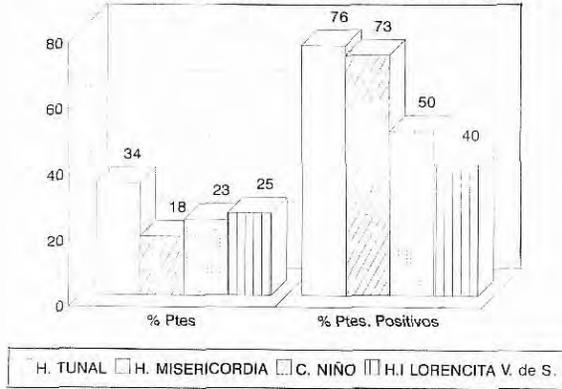
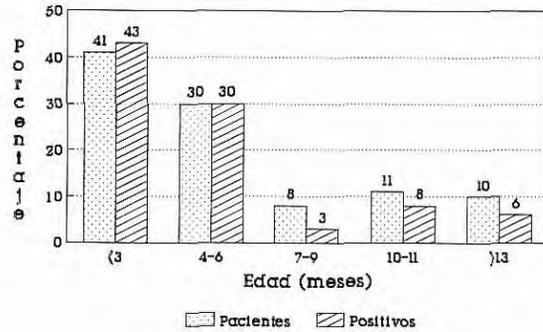


FIGURA 2. FRECUENCIA DE APARICION DEL VSR SEGUN LA EDAD



La frecuencia de aparición del VSR teniendo en cuenta la edad (meses) de niños analizados mostró una diferencia estadística significativa ($P < 0.05$), el 43% fueron menores o iguales a tres meses de edad, 30% de 4 a 6 meses, 13% de 7 a 9 meses, 8% de 10 a 12 meses y 6% mayores o iguales a 13 meses de edad (figura 2).

Teniendo en cuenta la positividad de la prueba con respecto a la edad, se obtuvo que el 41% de los niños eran menores o iguales a tres meses de edad, 30% de 4 a 6 meses, 8% de 7 a 9 meses, 11% de 10 a 11 meses y 10% mayores o iguales a 13 meses. Esto indica en nuestro estudio que la edad más susceptible a adquirir infección con VSR son niños menores o iguales a 13 meses de edad (tabla 2 y figura 2).

TABLA 2. Frecuencia de aparición del VSR según la edad del paciente.

EDAD (meses)	p	Positivo
< 3	41	43
4-6	30	30
7-9	8	3
10-1	11	8
>13	10	6
TOTAL	100%	00%

Al realizar el estudio comparativo de las historias y antecedentes clínicos de cada paciente pediátrico, en busca de las posibles causas de predisposición a la enfermedad se encontró que la infección con VSR no guarda ninguna relación con el sexo, ya que se encontró un 34% del VSR en niños y un 26% en niñas. Este resultado guarda una diferencia relativa de 8% lo cual indica que no hay tendencia significativa a un sexo determinado (Tabla 3).

Al comparar los resultados de cuadro hemático, todos los pacientes tanto positivos como negativos para VSR presentaron leucocitosis y linfocitosis. Se encontró un recuento total leucocitario promedio de 15.000 leucocitos/mm. El recuento diferencial tuvo un valor promedio de neutrófilos del 22%, linfocitos 70%, eosinófilos 3%, monocitos 4%, cayados 1%. La VSG tuvo un valor aproximado de 31 mm/h aproximadamente (Tablas 4 y 5. Figuras 4 y 5).

TABLA 3. Frecuencia de aparición del VSR según el sexo

PRUEBA	NIÑOS	NIÑAS	TOTAL
POSITIVO	34%	27%	61%
NEGATIVO	23%	16%	39%
TOTAL	57%	43%	100%

FIGURA 3. VALOR PROMEDIO DE RECUENTO LEUCOCITARIO SEGUN CENTROS INVOLUCRADOS EN EL ESTUDIO DEL VSR MILES



FIGURA 4. VALOR PROMEDIO DE RECUENTO LEUCOCITARIO SEGUN CENTROS INVOLUCRADOS EN EL ESTUDIO DEL VSR MILES

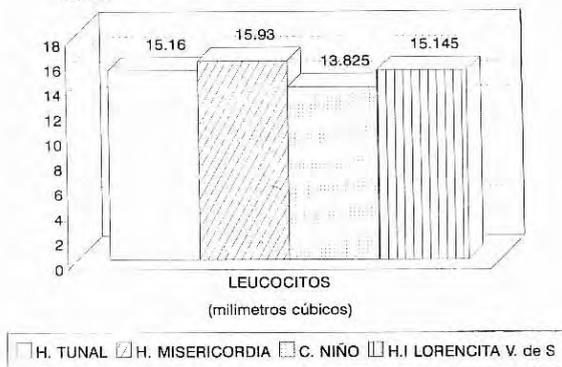


TABLA 4. Valores promedio del recuento leucocitario según los centros involucrados en el estudio del VSR

INSTITUCION	LEUCOCITOS/mm ³
Hospital El Tunal	15.161
Hospital de La Misericordia	15.927
Clinica del Niño	13.825

FIGURA 5. VALOR PROMEDIO EN PORCENTAJE DEL RECUENTO DIFERENCIAL SEGUN LOS CENTROS INVOLUCRADOS EN EL ESTUDIO DEL VSR

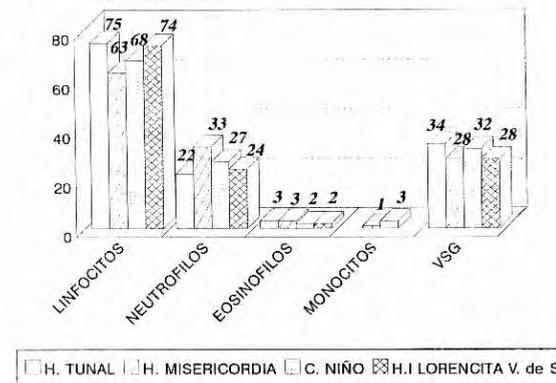


TABLA 5. Valores promedio en porcentajes del recuento diferencial de leucocito

INSTITUCION	NEUTROFILOS	EOSINOFILOS	MONOCITOS	LINFOCITOS	VSG
Hospital de El Tunal	22	3	75	34	
Hospital La Misericordia	33	3	1	63	28
Clinica del Niño	27	2	3	68	32
Hospital Infantil L.V.S.	24	2	74	28	
TOTAL	26 %	3%	1%	70%	31%

DISCUSION

El objetivo de este estudio fue conocer la frecuencia de aparición del virus sincicial respiratorio en niños menores de dos años, con sintomatología compatible con bronquiolitis. De las 61 muestras estudiadas, 37 fueron positivas para el antígeno del VSR que corresponde al 61% del total de las muestras. Este alto porcentaje demuestra que la presencia del VSR, es un hecho importante a tener en cuenta en la epidemiología de los hospitales de atención pediátrica de Bogotá (tabla 1).

La bronquiolitis está asociada con el VSR según lo demuestra este trabajo y otros realizados en otros países (1-4, 15, 18, 19). Los estudios epidemiológicos sobre bronquiolitis y VSR utilizan pruebas de ELISA para detectar antígenos. En ese sentido, en un estudio realizado por Miller y colaboradores (4) en el Laboratorio Regional de Virología en Ontario (Canadá), compararon el *Test-Pack* de Abbot y la inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para la detección del VSR en 224 aspirados nasofaríngeos. Encontraron que la ELISA presentó mayor sensibilidad y especificidad con respecto a la IFI.

En otro estudio, llevado a cabo por Waner y Colaboradores (8), en el Departamento de Pediatría, en Oklahoma en 1989, comparo el *Directigen* con la IFI, con el fin de determinar la especificidad y sensibilidad de las dos técnicas frente al antígeno del VSR. Warner empleó en este estudio 276 lavados nasofaríngeos de pacientes pediátricos; el *Directigen* mostró una sensibilidad del 87% y especificidad del 92%.

Aunque en nuestro estudio no se intentó determinar la sensibilidad y especificidad de las dos presentaciones, el solo hallazgo del antígeno VSR permite detectar pacientes que en el momento están padeciendo la enfermedad, ya que el antígeno solamente se detecta en el período agudo de la misma. En este trabajo, se encontró el antígeno en las secreciones en un 61% de los pacientes pediátricos analizados en cuatro hospitales de Bogotá.

Las técnicas de ELISA, desarrolladas por diferentes casas comerciales son de gran utili-

dad para el diagnóstico de laboratorio. Existen dos presentaciones que son *Directigen* (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD USA) y *Tes-Pack* (Abbott Diagnostics, Chicago, ILL USA), las cuales se han empleado en diversos trabajos (4-6, 9, 15). Sobre este punto, en el Departamento de Virología en el Hospital de la Universidad de Rotterdam en 1990 (5) se llevó a cabo un estudio en el cual se compararon las dos técnicas para determinar la especificidad y sensibilidad de cada una de ellas. Como resultado, el *Test-Pack* evidenció aproximadamente un 14% más de sensibilidad sobre el *Directigen*.

En nuestro trabajo para la determinación del VSR se utilizaron el *Test-Pack* junto con un kit de *Directigen*. Sin embargo, para los propósitos de nuestro trabajo la utilización de dos kits diferentes para detectar el antígeno del VSR, no significa una variable importante a tener en cuenta. Como se mencionó anteriormente en el estudio realizado por Warner y colaboradores (8), el *Test-Pack* demostró más sensibilidad. Posiblemente, si se hubiera trabajado el total de las muestras con el *Test-Pack*, la sensibilidad de nuestro estudio (según los resultados de Warner) habría sido un poco más alta. Sin embargo, en nuestro medio este punto tendría que establecerse con un estudio en el cual se comparen simultáneamente las dos presentaciones.

Para la realización del estudio estadístico de este trabajo, se utilizó una escala epidemiológica que más se acopló al muestreo de la investigación para determinar la frecuencia de aparición del VSR como agente etiológico de la enfermedad; la escala de medición de tipo nominal dicotómica es la más adecuada. Ella establece únicamente la ausencia o presencia del VSR dentro de una población en Bogotá.

Nuestro trabajo determinó que la frecuencia de aparición del VSR fue del 61%, en un total de 61 muestras analizadas durante los meses de enero a mayo de 1993; éste es un valor relativamente alto de aparición del VSR. Se requieren de otros estudios durante el año para poder determinar la incidencia y prevalencia del VSR en las infecciones respiratorias bajas (bronquiolitis).

Para determinar las posibles causas de enfermedad y con base en variables epidemiológicas como sexo, edad, sitio de procedencia y hallazgos de laboratorio, se logró establecer que hay una mayor frecuencia de VSR en pacientes hasta los tres meses de edad. La posible razón de esto es que en ese momento la respuesta inmunológica es deficiente o incompleta frente a este agente (20-22).

Se han realizado estudios con anticuerpos monoclonales para estimular la respuesta inmunológica contra los tres antígenos del VSR. Sin embargo, no se han logrado resultados satisfactorios por lo que se cree que la única forma de adquirir una respuesta inmunológica completa es la exposición directa (20-22).

De otro lado, al comparar los hallazgos de laboratorio no se encontraron diferencias significativas ($P=0,05$), ya que los valores fueron muy similares. Es así como en el cuadro hemático en todos los pacientes con bronquiolitis, tanto negativos como positivos para el antígeno del VSR, se observó una marcada leucocitosis y linfocitosis. Posiblemente esto se deba a la presencia de otro agente etiológico diferente al VSR (Tabla 5 y figura 5). La frecuencia del VSR respecto al sexo tuvo una distribución similar en ambos sexos (tabla 3 y figura 3).

En Bogotá y Colombia son pocos los estudios realizados sobre el diagnóstico etiológico de la bronquiolitis, por lo que este trabajo aporta datos recientes sobre el comportamiento de esta enfermedad y la frecuencia del VSR en la población infantil en nuestro medio. Además, este estudio analizó varios hospitales de diferentes sitios de Bogotá, lo que le da mayor validez a los resultados obtenidos.

En el Hospital Lorencita Villegas de Santos de 15 muestras analizadas (25%) se encontró un 40% de positividad para el antígeno VSR, con respecto a los hospitales el Tunal 21 (76%), La Misericordia 11 (73%) y la Clínica del Niño 14 (50%) (tabla 1).

Aunque el número de pacientes estudiados no es muy grande, los resultados obtenidos permiti-

erían pensar que por la diversidad social de la población, los niños de bajos recursos económicos serían más susceptibles a adquirir la infección por VSR. Esto se demostraría al comparar hospitales de estrato socio-económico similar como el hospital del Tunal con el hospital de la Misericordia y el Hospital Lorencita Villegas de Santos con la Clínica del Niño.

En el primer caso (H. Tunal - H. Misericordia) se observó una frecuencia de aparición del VSR del 76% y 73% respectivamente.

A diferencia del segundo caso (H. Lorencita Villegas de Santos -C. del Niño), donde la frecuencia fue menor, entre el 50% y el 40% respectivamente. Esta diferencia se debe probablemente a que la población atendida en el hospital Lorencita Villegas de Santos y la Clínica del Niño es de mejor condición socio-económica, en base a lo cual se podría asociar este resultado a unas mejores condiciones de salud.

Para finalizar, los datos obtenidos en este estudio preliminar podrían servir como base para el establecimiento de la epidemiología del VSR en la población pediátrica del país. Se requieren estudios más amplios a nivel nacional y durante un año para determinar con exactitud su incidencia.

Por el momento, el 61% de aparición del VSR encontrado en este estudio es un dato importante a tener en cuenta para estudios posteriores.

SUMMARY

The frequency of respiratory syncytial virus (RSV) of 61 patients who showed bronchiolitis symptoms was determined in specimens of nasopharyngeal secretions. The specimens from emergency of the wards hospitals: El Tunal, Lorencita Villegas de Santos, La Misericordia and la Clínica Hospitals and del Niño were obtained.

The antigen detection was carried out by the ELISA method, employing Directigen-BBL, and TestPack-Abbott. Out of 61 specimens studied, 37 (61%) were positive to RSV antigen. It was related positive findings and sex, were analysed

so: were boys (57%) and 16 girls (43%). was positive frequencies of RSV and patient's age were also analysed, older children showed a lower frequency.

On the other hand, had high positive antigen to RSV, poor patients the preliminary results of this study, shows the high frequency of RSV in pediatric patients with bronchiolitis symptoms.

AGRADECIMIENTOS

A los pediatras, enfermeras y terapeutas respiratorios de los Hospitales El Tunal, La Misericordia, Clínica del Niño y Lorencita Villegas de Santos por su amable cooperación. Sin ellos, este estudio no se hubiera podido llevar a cabo. A Ana Teresa Farfán MsC. por su colaboración en la preparación de este estudio.

REFERENCIAS

- Breese C, Hall W.** Bronquiolitis en enfermedades infecciosas principios y práctica, Mandel y Douglas Barcelona: Capitulo 52. Editorial Médica Panamericana, 1991; 562 -566.
- McIntosh K.** Pathogenesis of severe acute respiratory infections in the developing world: respiratory syncytial virus and parainfluenza viruses. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 492 -500.
- Storch G, Hall C, Anderson L.** Antigenic and nucleic acid análisis of nosocomial isolates of respiratory syncytial virus *J Infec Dis* 1993; 167:562-566.
- Miller H, Milk R.** Comparison of the VIDAS RSV Assay the Abbott Test-Pack RSV with direct immunofluorescence for detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates. *J Clin Microbiol* 1993; 31:1336-1338.
- Rothbarth PH, Hermus MC.** Reliability of two new test kits for rapid diagnosis of Respiratory Syncytial Virus infections. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 824-826.
- Halstead D, Todd S.** Evaluation of five methods for respiratory syncytial virus detection. *J Clin Microbiol* 1990; 28:1021-1025.
- Smith M, Creustz C.** Detections of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal secretions by shell vial technique. *J Clin Microbiol* 1991; 29:463-465.
- Warner J, Whitehust N.** Comparision of Directigen RSV with val isolation and direct immunofluorescence for the identification of respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol* 1990; 28:480-483.
- Ramírez E, Aznar J.** Evaluación de cinco métodos para el diagnóstico de las infecciones por virus respiratorio sincital. *Enf Infec Microbiol Clin* 1992; 10: 103 -106.
- Johnston S, Siegel C.** Evaluation of direct immunoassay, centrifugation culture, and conventional culture for the detection of respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2394 -2397.
- Matthey S, Nicholson D.** Rapid detection of respiratory viruses by shell vial culture and direct staining by using pooled and individual monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 1992; 30:540-544.
- Meddens M, Herbrink P.** Serodiagnosis of respiratory syncytial Virus (RSV) infection in children as measured by detection of RSV specific immunoglobulins G, M and A with enzyme linked immunoglobulins assay. *J Clin Microbiol* 1990; 28:152-155.
- Mackie P, Magde P.** Rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infection by using pernasal swabs. *J Clin Microbiol* 1991; 29:2653-2655.
- Thomas E, Book L.** Comparision of two rapid methods for detection of respiratory syncytial virus (RSV) (test pack RSV and ortho RSV ELISA) with Direct immunofluorescence and virus asolation for the diagnosis of pediatric RSV infection. *J Clin Microbiol* 1991; 29:632 - 635.
- Buesa FJ, García-Verdú M.** Valoración de cinco métodos de detección de virus sincital respiratorio en secreciones nasofaríngeas. *Enf Infec Microbiol Clin* 1990; 8:24-27.
- William G. Conhran.** Estimation of sample Size Chapter 4 Third Edition. New York: John Wileysons. 1977; 72 - 78.
- Wayne Daniel.** Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa-Noriega-Colombia, España-Venezuela 1991; 221-279.
- Martínez F, Wright A.** Maternal age as a risk factor for wheezing lower respiratory illnesses in the First year of life. *J Epidemiol* 1992; 136:1258-1267.
- Anderson L, Parker R.** Association between respiratory syncytial virus outbreaks and lower respiratory tract deaths of Infant and young children. *J Infect Dis* 1991; 161:640-646.
- Connors M, Kulkarni A, Collins P.** Resistance of respiratory syncytial virus (RSV) challenge induced by infection with a vaccinia virus recombinant expressing the RSV M2 protein (Vac -M2) is mediated by CD8+ T cells, while that induced by Vac -For Vac- G recombinants is mediated by antibodies. *J Virol* 1992; 66:1277-1281.
- Muelenaer P, Henderson F.** Group-specific serum antibody responses in children with primary and recurrent respiratory syncytial virus infections. *J Infect Dis* 1991; 164: 15 - 21.
- Breese C, Walsh E.** Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1991; 163: 693 -698.