



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARIA DE SALUD

HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

**FRECUENCIA DEL VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO EN LA DISPLASIA
BRONCOPULMONAR EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL HOSPITAL
JUAREZ DE MÉXICO**

TESIS
PARA OBTENER EL
DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN **PEDIATRÍA**

PRESENTA:

DRA. JUDITH SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

ASESOR:

DR. BENITO RUBÉN VEGA MARTÍNEZ

Registro
HJM 1614/08.12.15-R



FEBRERO DEL 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA:

A mis padres:

Guadalupe Rodríguez Cervantes
Antonio Sánchez Vázquez

Por haber inculcado en mí la perseverancia y su amor incondicional

Mis hermanos:

Lucy, Rocío, Arturo, Edith y Dani
Simplemente por ser el centro de mi vida

Bárbara:

Gracias hija por existir

Tía Ángeles:

Por tu cariño

D.N.P

A ti por ser esa luz que ha iluminado nuevamente mi vida

AGRADECIMIENTOS

Hospital Juárez de México por haber sido mi casa durante tres años.

Dr. Jorge Alberto del Castillo Medina por ser nuestro guía en esta difícil labor.

Dr. Benito Rubén Vega Martínez por apoyar este proyecto.

A mis *maestros* que compartieron conmigo su tiempo y sabiduría.

A mis *compañeros* que con el paso del tiempo se han convertido en mis mejores amigos.

A cada uno de los *niños* que han permitido realizarnos como médicos y nos han regalado su sonrisa.

INDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

INTRODUCCIÓN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

ANTECEDENTES

OBJETIVO

TAMAÑO DE LA MUESTRA

DISEÑO METODOLÓGICO

LUGAR Y DURACIÓN

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA

Palabras Clave: *Virus Sincicial Respiratorio, paramyxoviridae, Displasia Broncopulmonar.*

INTRODUCCIÓN

La displasia broncopulmonar es una patología la cual enfatiza el compromiso de todos los tejidos del pulmón, con cuatro estadíos los cuales han sido determinados de acuerdo a cambios tisulares, anormalidades radiológicas y características clínicas (1,2).

Ante la introducción de la ventilación mecánica, los neonatos prematuros que sobrevivieron fueron quienes mostraron el resultado del amplio uso del soporte mecánico ventilatorio. Sin embargo, el precio pagado fue la aparición de la displasia broncopulmonar como causa de morbilidad severa y mortalidad significativa (1-3).

Hay otros factores implicados en la patogenia: entorno uterino, prematuridad, infecciones o inflamación, líquidos, alteraciones vasculares, detención del desarrollo, oxígeno, factores genéticos, nutrición, ventilación mecánica, deficiencia o disfunción del surfactante.

En este caso nos enfocaremos a los procesos infecciosos en especial, al virus sincicial respiratorio que afecta a los niños en sus primeros años de vida. Los prematuros constituyen una población especialmente vulnerable, por lo que, cualquier agresión sobre el sistema respiratorio inmaduro tiene altas probabilidades de generar patología aguda grave y de tener consecuencias deletéreas a largo plazo (6,7).

Por otra parte, la mejor atención neonatal ha acrecentado el número de recién nacidos prematuros que sobreviven al periodo neonatal, lo que aumentó el volumen de esta población de alto riesgo. En Latinoamérica, el virus sincicial respiratorio ocupa un lugar destacado, con altas tasas de prevalencia, como en el resto del mundo

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la frecuencia del virus sincicial respiratorio en la displasia broncopulmonar en recién nacidos prematuro como factor que exacerba dicha patología?

ANTECEDENTES

La displasia broncopulmonar fue originalmente descrita por Northway en 1966, como niños que desarrollaban falla respiratoria crónica y cambios radiológicos después de la prolongada ventilación mecánica. El daño pulmonar fue atribuido principalmente a uso agresivo de la ventilación mecánica así como a las altas concentraciones de oxígeno inspiratorio. Sin embargo actualmente posterior a la introducción de esteroides prenatales, el uso post natal de surfactante y la menor agresión de la ventilación mecánica la presentación es diferente y la supervivencia en prematuros extremos ha incrementado. (1,2) La presentación clínica y la gravedad se han modificado sustancialmente, en la actualidad Bancalari y colaboradores en 1979 y 2002 la redefinen con criterios diagnósticos más precisos.

La displasia broncopulmonar se caracteriza por severos cambios morfológicos que incluyen enfisema, atelectasia, fibrosis y marcadores de metaplasia escamosa epitelial e hipertrofia del músculo liso en la vía aérea y en la vasculatura pulmonar. Se asocia a fracaso respiratorio severo, obstrucción de la vía aérea, hipertensión pulmonar y cor pulmonale. (2)

Displasia broncopulmonar se caracteriza por requerir oxígeno a los 28 días de vida o bien con 36 semanas post menstruales con una Fracción de oxígeno inspiratorio $FiO_2 > o igual a 30\%$.

Patogénesis

En Estados Unidos De Norteamérica cerca de 500,000 recién nacidos son prematuros, y 50,000 tienen un peso menor de 1500 gramos y cerca de 20,000

pesan menos de 1000 gramos y tienen una edad post natal de 32 semanas menstruales o menos y ellos desarrollan displasia broncopulmonar. (2,3)

Los principales factores de riesgo incluyen prematuridad, oxigenoterapia, ventilación mecánica, infección y conducto arterioso permeable (PCA).

La evidencia de que niveles elevados de oxígeno directo causan el desarrollo o el empeoramiento de displasia broncopulmonar ello por la alteración del balance de oxidación y reduce el glutatión un gran antioxidante, de hasta 28 días después de su nacimiento y aumenta la mortalidad. (1,3)

El surfactante (agente natural) reduce la tensión superficial y minimiza el colapso alveolar, sin embargo es deficiente en niños con síndrome de distrés respiratorio y el reemplazo del mismo ha incrementado la incidencia de displasia broncopulmonar.

Factores implicados en la patogenia: entorno uterino, prematuridad, infecciones o inflamación, líquidos, alteraciones vasculares, detención del desarrollo, oxígeno, factores genéticos, nutrición, ventilación mecánica, deficiencia o disfunción del surfactante. (1)

Hay evidencias que sugieren que la inflamación es la responsable del daño pulmonar secundario a infecciones (no causal de la enfermedad), exacerbando la severidad de la displasia broncopulmonar y los riesgos, entre ellos mencionamos a los tipos virales como al VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO (VSR), descubierto en un chimpancé en 1956; en 1957, Chanok lo aisló de un niño que sufría neumonía y lo denominó según las imágenes sinciciales que se observaban en los cultivos infectados. Breton fue el primero en describir el VSR en Francia, en 1961 en una epidemia de infecciones respiratorias en prematuros. (3)

Pertenece a la familia *paramyxoviridae*, se subdivide en dos subfamilias: *paramyxovirinae* y *pneumovirina*.

Tienen una estructura muy similar. Los viriones son muy pleomorfos, con una forma esférica, de 100-350 nm de diámetro. Están rodeados por una cubierta lipídica derivada de la membrana citoplasmática, recubierta de espículas glucoprotéicas que desempeñan una función esencial en la infección celular y la protección antivírica.

La cubierta cuenta con tres glucoproteínas (gp): gp G (proteína de fijación), gp F (proteína de fusión) y gp SH (pequeña glucoproteína hidrófoba). La gp G es una proteína de membrana de tipo 2 con la parte carboxiterminal externa y la parte aminoterminal insertada en la partícula. Su intensa glucosilación podría favorecer el acceso del virus a las células del epitelio respiratorio. La gp F es una proteína de membrana de tipo 1 con la parte carboxiterminal interna; a ella se debe la fusión entre la cubierta vírica y la membrana citoplasmática, la penetración intracelular del virus y la difusión tisular de la infección. La proteína de matriz M recubre la cara interna de la cubierta y se conecta a la vez a las gp G y F y a la nucleocápside vírica. La nucleocápside es helicoidal, no está segmentada, y consta de una molécula de ácido ribonucleico (ARN) monocatenario de 13-15 kb, asociada a las proteínas N (nucleoproteína), P (fosfoproteína) y L (proteína grande). La proteína M2-1, que acelera la transcripción, también se encuentra en la nucleocápside. (4,5)

El VRS afecta principalmente a las células epiteliales ciliadas del árbol respiratorio, aunque también se ha demostrado que se infecta a los macrófagos, monocitos o eosinófilos.

Ciclo de multiplicación

En las células infectadas, se detecta ARNm y proteínas víricas a partir de las 4-6 primeras horas. La síntesis de ARNm es máxima a las 12-16 horas y la de proteínas hacia las 18-20 horas. Los nuevos viriones comienzan a detectarse 8-10 horas después de la infección, y la producción es máxima al cabo de 24 horas. La multiplicación del virus afecta poco al funcionamiento celular. La síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y de ARN celulares se reduce a la mitad hacia la 18va hora y la síntesis proteica se afecta poco. (4)

Epidemiología

En zonas templadas, las infecciones humanas por VSR evolucionan en forma de epidemias invernales anuales. En los niños hospitalizados, la infección por el VSR representa la epidemia principal. Los casos iniciales aparecen casi siempre en octubre; la epidemia es máxima en diciembre, durante unas 4 semanas, y se extiende por término medio durante 3-5 meses.

En los países en vías de desarrollo, cada vez se estudia más la frecuencia y la repercusión de las infecciones por VSR, es estacional y depende del clima. Por ejemplo, en las regiones tropicales, en la India, África, Asia y en las islas del Océano Índico, la epidemia suele coincidir con las épocas de temperaturas más elevadas y/o con la estación de las lluvias. Es el período en el que la población, sobre todo los niños, se agrupa en recintos cerrados, lo que facilita la transmisión del virus entre seres humanos. (4,5)

No obstante, en los niños hospitalizados, la frecuencia de infección por VRS es más precisa durante las epidemias por VSR, las enfermedades respiratorias de los lactantes y los niños pequeños corresponden la mayoría de las veces a la primoinfección por el virus: casi siempre tiene lugar antes de los 5 años, edad a

la que el 95% de los niños tiene anticuerpos, y alrededor del 50% de los casos afecta a niños menores de 1 año.

Las familias pueden tener contacto con este virus, y el 45% de sus miembros pueden resultar infectados. El 25% de los niños en edad escolar y el 3-5% de los adultos sanos se reinfectan periódicamente por el VRS. Estas reinfecciones desempeñan una función esencial en la difusión del virus entre seres humanos y en la génesis de las epidemias.

Transmisión

El virus se transmite con gran facilidad a través de las secreciones respiratorias. Los lactantes ingresados en los servicios de pediatría debido a una infección por VSR eliminan muchos virus por vía nasal, aunque sin alcanzar las cantidades que se observan en la gripe. La excreción vírica comienza 2-3 días después del contagio y dura unos 10 días. A menudo es muy difícil precisar el origen del contagio por VSR de los pacientes hospitalizados, ya que existen muchas fuentes posibles. La mucosa nasal y la conjuntival son la puerta de entrada habitual de la infección. La infección puede transmitirse por contacto directo, por aerosoles de partículas grandes emitidos durante el estornudo o los accesos de tos. También es importante la transmisión directa del virus a través de las manos, el polvo y la ropa del personal sanitario. El VSR puede seguir siendo infeccioso alrededor de 30 horas en las superficies, una hora y media en los guantes y 30 minutos en las batas de algodón. (5) La infección hospitalaria por VSR aparece cerca de otro paciente infectado o después del contacto con el personal sanitario o con un miembro de la familia infectado.

Cuadro clínico

Es diverso de acuerdo a la edad, pero con respecto a recién nacido podemos encontrar febrícula, sibilancias y a la auscultación revela roncus difusos, estertores finos y sibilancias y radiológicamente sin datos clínicos sugestivo. Sin embargo, si la enfermedad progresa, incrementan las sibilancias y datos francos de dificultad respiratoria caracterizada por aumento de la frecuencia respiratoria, retracciones intercostales y subcostales, hiperexpansión de tórax, inquietud y cianosis periférica. Son signos de enfermedad grave y letal en potencia la cianosis central, taquipnea con incremento importante de la frecuencia respiratoria por minuto, inquietud y episodios de apnea. Y la auscultación silenciosa por el escaso intercambio de aire.

A nivel radiológico cuando la enfermedad progresa podemos encontrar datos como atrapamiento aéreo o hiperextensión torácica, en el 50 al 80% de los pacientes se observa engrosamiento peribronquial o neumonía intersticial y se produce consolidación segmentaria en el 10-25%. El derrame pleural se ve rara vez o nunca.

En recién nacidos prematuros la respiración periódica y los episodios de apnea han sido signos comunes.

Papel del virus y la inmadurez pulmonar

El VSR se replica en principio en las células epiteliales nasales, y el título infeccioso que se alcanza es de 10^4 - 10^6 TCID₅₀/ml de secreciones nasales en unos cuantos días. La difusión de la infección nasal a los senos, al oído medio y a las vías respiratorias inferiores (tráquea, bronquios y bronquiolos) se hace a través de las secreciones infectadas, y precisa de 1 a 3 días. El virus puede difundirse también de una célula a otra por fusión, sin paso extracelular.

Las lesiones pulmonares de las formas graves por VSR son iguales a las que se encuentran con otros virus. Se observa necrosis y proliferación del epitelio bronquiolar y destrucción de las células cilíndricas ciliadas. Se forma un infiltrado peribronquiolar constituido por linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. La infiltración edematosa de la submucosa y del tejido intersticial, la hipersecreción de moco, la descamación de restos celulares y la llegada de células inflamatorias contribuyen a obstruir los bronquiolos y los alvéolos, lo que causa la obstrucción o la distensión de la parte distal de las vías respiratorias. En los casos en los que se desarrolla una neumonía, la pared alveolar aumenta de grosor con el infiltrado de células mononucleadas y el alvéolo se llena de exudado. Por lo general, estas lesiones se distribuyen en manchas, incluso cuando la afectación es difusa.

Se observan lesiones graves, con zonas de consolidación o de enfisema que pueden englobar el 70% de los lóbulos afectados o todo el pulmón. En el epitelio bronquial, el virus se replica en las células ciliadas y en las no ciliadas provocando una intensa alteración ciliar, formación de sincitios, necrosis y descamación. Estas lesiones se encuentran en la nariz, la tráquea y los bronquios. En el alvéolo se infectan los neumocitos de tipo I y sobre todo de tipo II; los linfocitos y los neutrófilos se acumulan en la región subepitelial, y las luces bronquiales y alveolares se llenan de un exudado formado por moco, células epiteliales, linfocitos, neutrófilos y macrófagos. La asociación frecuente de neutrófilos con las células infectadas sugiere que desempeñan una función destacada en la respuesta inflamatoria precoz. Las lesiones inducidas por el virus se resuelven al cabo de 10-30 días.

Las lesiones del epitelio y de los cilios inducidas por el virus son un componente esencial de la patogenia. La inmadurez pulmonar acentúa la obstrucción bronquiolar. La obstrucción respiratoria se favorece por el reducido diámetro bronquial y los valores bajos de la conductancia, sobre todo si hay una producción excesiva de formas víricas filamentosas. Además, la intensidad de la proliferación

vírica y su extensión a las vías respiratorias inferiores está facilitada porque hay poca producción o ninguna inmunoglobulina (Ig) G contra las glucoproteínas G y F.

Respuesta inflamatoria a la infección por el virus sincicial respiratorio

La infección se caracteriza por una reacción inflamatoria intensa, por linfocitos y eosinófilos, que puede atribuirse a una disfunción del equilibrio Th1-Th2, con una respuesta Th2 excesiva. La respuesta celular precoz a la primoinfección vírica se caracteriza por la llegada al pulmón de neutrófilos, cuya actividad sería la principal causa de los signos clínicos respiratorios. De este modo, llegan pocos eosinófilos al pulmón, y los dos tipos celulares (polimorfonucleares y eosinófilos) contribuyen a la reacción inflamatoria y a las lesiones tisulares. Los polimorfonucleares que se dirigen a los bronquios infectados y las quimiocinas proinflamatorias pueden causar la destrucción directa de las células infectadas, lo que favorece la eliminación del virus, pero daña también los tejidos. Los polimorfonucleares liberan así mismo enzimas proteolíticas y, en el caso de los eosinófilos y de los basófilos, efectores solubles como los leucotrienos (3,4). Pueden detectarse citocinas proinflamatorias en las secreciones respiratorias y el lavado broncoalveolar de pacientes infectados por el VSR. Tres de las citocinas que más se detectan (IL-8, RANTES y MIP-1a [*proteína inflamatoria de macrófagos 1a*]) están implicadas en la atracción y el reclutamiento de polimorfonucleares y eosinófilos.

Prevención

La parte esencial de la prevención de las infecciones por VSR, se basa en una serie de medidas generales de higiene orientadas a evitar la exposición de los lactantes pequeños a la contaminación en la familia, la consulta del médico y los hospitales. El control de la difusión de la infección viral a los lactantes se basa

en unas medidas sencillas de higiene: lavado de las manos, evitar los contactos con niños pequeños o personas acatarradas. Debido a la gravedad de las infecciones por el VSR deben adoptarse medidas estrictas de prevención en los servicios que alberguen a estos pacientes: detección rápida de la infección, aislamiento de los enfermos, lavado de las manos, uso de guantes y de mascarillas, prohibición de las visitas de niños pequeños, alejamiento del personal asistencial acatarrado, etcétera (4,5).

Tratamiento antiviral

La ribavirina es un análogo nucleosídico que se ha propuesto para el tratamiento de las infecciones por VSR. Tiene una actividad antiviral demostrada en cultivo frente al VSR y los VPIh, así como en la infección experimental por VSR en la rata. Su mecanismo de acción antiviral aún sigue sin conocerse con detalle. Existen pocos datos sobre las dosis eficaces (DI50 y DI90) de la ribavirina in vitro. También se ha descrito que la ribavirina podría favorecer una respuesta antiviral al activar los linfocitos T y reducir la producción de IgE anti-VRS. El fármaco se administra por aerosol, mediante una tienda, una mascarilla o con ventilación mecánica, durante 12-18 horas al día a lo largo de 3-7 días, con una dosis total de 15 mg/kg/día (5,6).

Algunos estudios demuestran, por ejemplo, que el tratamiento reduce la duración de la ventilación asistida y de la hospitalización, aunque en muchos estudios publicados los resultados no tienen significación estadística. Además de la ribavirina, otras moléculas pueden bloquear las etapas precoces de la multiplicación viral (adhesión, penetración y descapsidación) o la transcripción y la replicación del ARN viral. Entre ellas, una nueva clase interesante de fármacos anti-VRS es la de los inhibidores de la proteína F, que bloquean la entrada del virus en las células. La molécula VP 14637 de ViroPharma, por ejemplo, es un inhibidor de la proteína F que es 40.000 veces más activa que la ribavirina.

Cuando se administra por aerosol, el producto es eficaz in vivo en la infección experimental de la rata del algodón. La molécula 233675 de Bristol-Myers Squibb, administrada por vía oral a ratones infectados reduce de forma significativa el título viral en el pulmón.

Entre los anticuerpos anti-VSR con actividad neutralizante, el palivizumab tiene una propiedad original e interesante. Previene la inflamación neurógena de las vías respiratorias cuando se administra de forma local justo antes o en el preciso comienzo de la infección experimental de las ratas. Una administración muy precoz en niños infectados podría evitar una inflamación neurógena persistente (5,7,9). Los primeros estudios mostraban que la inyección intravenosa de anticuerpos neutralizantes anti-VSR, en los lactantes de riesgo hospitalizados, reducía la replicación viral al igual que la ribavirina, pero mejoraba poco la evolución clínica inmediata.

Como ya se ha comentado, disminuir la replicación viral mediante la utilización de la ribavirina o de anticuerpos específicos no es suficiente para mejorar el estado clínico de los niños que presentan una infección grave por VSR. Por tanto, se han realizado ensayos clínicos sobre la utilización de surfactante o de sustancias que modifican la producción de citocinas inflamatorias. Por ejemplo, la administración intranasal de interferón-2a a voluntarios infectados por el VSR reduce de forma significativa la duración y la intensidad de las manifestaciones clínicas. No obstante, en el caso del interferón (algunas cepas son resistentes a esta sustancia), al igual que sucede con todos los demás ensayos terapéuticos del mismo tipo, los resultados no han sido convincentes hasta el momento.

El estudio aleatorizado, controlado y con doble enmascaramiento PREVENT, realizado en 510 lactantes que fueron prematuros o afectados por una displasia broncopulmonar demuestra que la inyección intravenosa mensual de inmunoglobulinas anti-VRS reduce un 41% la tasa de sus hospitalizaciones debidas a infección por el VSR y la frecuencia de las formas graves. Esta

estrategia profiláctica, que no está disponible en todos los países, tiene el inconveniente de requerir una vía venosa y de utilizar las inmunoglobulinas, que son hemoderivados humanos, con los que existe un riesgo residual teórico de transmitir un agente patógeno, a pesar de los procedimientos de inactivación (5,8).

El anticuerpo monoclonal humanizado (IgG1) palivizumab, dirigido contra la gp F de los VRS A y B, no posee este inconveniente. Durante el invierno de 1996-1997, 1.502 lactantes que fueron antiguos prematuros o afectados por una displasia broncopulmonar se distribuyeron de forma aleatoria para recibir 5 inyecciones intramusculares de palivizumab (15 mg/kg) o placebo cada 30 días (8). La profilaxis con palivizumab redujo un 55% la hospitalización debida a una infección por el VRS: 10,6% con placebo frente a 4,8% con palivizumab, y la reducción alcanzó el 78% en los antiguos prematuros: 8,1% con placebo frente a 1,8% con palivizumab, y un 39% en los casos de displasia broncopulmonar: 12,8% con placebo frente a 7,9% con palivizumab (5,9).

En Francia, las condiciones actuales de la prescripción y de tratamiento con el palivizumab son las siguientes:

- Niños menores de 6 meses de edad al principio del período epidémico, nacidos con una edad gestacional menor o igual a 32 semanas y con un riesgo especial, debido a las secuelas respiratorias cuya gravedad se manifiesta por una oxígeno dependencia superior a 28 días en el período neonatal;
- Niños de 2 años de edad al principio del período epidémico, nacidos con una edad gestacional inferior o igual a 32 semanas y con un riesgo especial, debido a las secuelas respiratorias cuya gravedad se manifiesta por una oxígeno dependencia superior a 28 días en el período neonatal, que han necesitado un tratamiento por displasia broncopulmonar en los últimos 6 meses.
- Niños menores de 2 años que presentan una cardiopatía congénita con repercusión hemodinámica.

OBJETIVO

OBJETIVO GENERAL:

Determinar la frecuencia mediante tamizaje por medio del BD directigen EZ; test de inmunoanálisis cromatográfico rápido para la detección directa y cualitativa del antígeno del virus sincicial respiratorio en la displasia broncopulmonar en recién nacidos que cumplen con criterios para displasia broncopulmonar durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos neonatal y justificar el tratamiento específico etiológico viral en los recién nacidos prematuros, como parte de el decremento de la incidencia y tiempo de estancia hospitalaria, así como las complicaciones.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- reconocer la incidencia de displasia broncopulmonar asociada a virus sincicial respiratorio.
- determinar la incidencia del virus sincicial respiratorio de acuerdo a peso al nacimiento y días de estancia intrahospitalaria.
- Identificar la frecuencia entre infección por virus sincicial respiratorio y displasia broncopulmonar agudizada.

HIPOTESIS

Hipótesis real

- La infección por virus sincicial respiratorio exagera la displasia broncopulmonar en recién nacidos con prematurez extrema, durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos.

Hipótesis alterna

- La incidencia por virus sincicial respiratoria es baja en recién nacidos con displasia broncopulmonar, durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos neonatales en el hospital Juárez de México.

Hipótesis nula

- No existe relación entre virus sincicial respiratorio y displasia broncopulmonar durante la estancia en la unidad de cuidados intensivos neonatales en el Hospital Juárez de México

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se realiza en 30 pacientes con displasia broncopulmonar el análisis directigen EZ RSV (para la detección directa del virus sincitial respiratorio), durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos en el Hospital Juárez de México durante 8 meses (01 de marzo de 2008 a 31 de octubre de 2008).

DISEÑO METODOLÓGICO

DISEÑO DEL ESTUDIO: prospectivo, longitudinal.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE NO INCLUSIÓN PARA EL ESTUDIO

Criterios de inclusión:

- Recién nacido pretérmino, con diagnóstico clínico de displasia broncopulmonar, nacidos en el Hospital Juárez de México con estancia intrahospitalaria durante el periodo comprendido del 1ro de marzo de 2008 al 31 de octubre de 2008 en la unidad de cuidados intensivos neonatales del Hospital Juárez de México. (Previo consentimiento informado)

Criterios de no inclusión:

- Niños con criterios de inclusión que los padres no hayan consentido su inclusión en el estudio.
- Niños con criterios de inclusión que fallezcan posterior a su primer mes de vida.

Criterios de exclusión:

- Recién nacidos con criterios de inclusión que no requieran una fracción inspirada de oxígeno como mínimo del 30% al llegar al día 28 o bien a las 36 semanas post menstruales.
- Recién nacidos incluidos en el estudio que los padres decidan retirarlo del estudio.
- Recién nacidos que incluidos fallezcan durante su estancia hospitalaria

LUGAR Y DURACIÓN

Servicio de Neonatología, Hospital Juárez de México

Datos recopilados de expedientes clínicos y durante la toma de muestreo en un período de 10 meses del 01 de marzo de 2008 al 31 de octubre de 2008.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material: análisis directigen EZ RSV en secreciones nasofaríngeas

Métodos: Se realiza en el Hospital Juárez de México, en el servicio de neonatología en la unidad de cuidados intensivos neonatales, en el cual se incluyen 30 pacientes con previo diagnóstico de displasia broncopulmonar (cumplen con criterios)

ESTUDIOS DE LABORATORIO

BD directigen EZ VSR (para la detección directa del virus sincitial respiratorio VSR)

El análisis directigen EZ VSR es un inmunoanálisis cromatográfico rápido para la detección directa y cualitativa del antígeno del virus sincitial respiratorio (VSR) en muestras de lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, torundas nasofaríngeas y torundas/lavados nasofaríngeos de pacientes en los que se sospecha una infección respiratoria de etiología viral. Este análisis está diseñado para uso diagnóstico in vitro para facilitar el diagnóstico de las infecciones por el virus sincitial respiratorio en pacientes neonatales y pediátricos menores de 20 años.

Los métodos tradicionales para la detección de los virus respiratorios han sido el cultivo celular y el análisis de anticuerpos por fluorescencia directa (DFA). Mas recientemente se ha demostrado la utilidad de la reacción de cadena polimerasa (PCR) para la detección de virus respiratorios, incluido el VSR. Se dispone del enzimoimmunoanálisis (EIA) y de sistemas manuales rápidos para virus específicos como los virus de la gripe A y B y el VSR. Las pruebas rápidas permiten un diagnóstico precoz, lo cual posibilita el aislamiento y el tratamiento apropiados de los pacientes para prevenir la diseminación intrahospitalaria de infecciones a pacientes con alteración de las funciones cardíacas, respiratorias o inmunológicas. Además, las pruebas rápidas facilitan la elección del tratamiento antirretroviral adecuado.

Las muestras recogidas con mayor frecuencia para el análisis del VSR son los lavados nasofaríngeos, aspirados y torundas.

La prueba de detección de antígenos Directigen EZ VSR es un análisis cromatográfico para detectar antígenos del VSR en diversas muestras de

pacientes con síntomas, la velocidad y el rendimiento del análisis directigen EZ VSR permite su aplicación como prueba de urgencia para la detección de antígenos del VSR, ya que proporciona información rápida relevante para la intervención antiviral y para otras decisiones clínicas o de soporte.

Principios del procedimiento

El análisis directigen EZ VSR es un análisis cromatográfico para detectar cualitativamente antígenos del VSR en muestras respiratorias. Al añadir las muestras recogidas al dispositivo de análisis, los antígenos A y/o B del VSR se unen al conjugado anticuerpo oro coloidal de la tira reactiva y forman un complejo antígeno anticuerpo. Este complejo se desplaza a través de la tira reactiva hasta el área de reacción y es atrapado por la línea de anticuerpo anti VSR de la membrana. El conjugado sobrante se une a una segunda línea constituida por antígeno del VSR desactivado que sirve como control funcional. Un resultado positivo se indica con la aparición de dos líneas de color morado rojizo en la ventana de lectura, una junto a la "T" (test, análisis) y otra junto a la "C" (control). La ausencia de una línea de color morado rojizo junto a la "T" y la presencia de una línea de color morado rojizo junto a la "C" indican un resultado negativo. El análisis se considera no interpretable si no hay una línea morada rojiza visible junto a la "C".

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico in vitro

1.- el reactivo de control positivo del VSR y la línea de control del dispositivo BD VSR han sido preparados a partir de células infectadas con el VSR en cultivo tisular que han sido desactivadas mediante tratamiento con un detergente y sonicación y posteriormente analizadas mediante procedimientos bioanalíticos.

2.- no utilizar el kit si los controles positivos y negativos no producen los resultados adecuados.

3.- en las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las “precauciones estándar” y las directrices del centro.

4.- No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad.

5.- No mezclar reactivos de kits que tengan diferentes números de lote. No reutilizar el dispositivo.

6.- Los reactivos contienen azida sódica, que es nociva por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico.

Conservación y manipulación

Los kits pueden conservarse a una temperatura de 2c a 30c. No congelar, los reactivos y dispositivos BD VSR deben estar a temperatura ambiente al utilizarlos para el análisis.

Toma y preparación de las muestras

Transporte y conservación de las muestras: transportar muestras recogidas al laboratorio con la mayor rapidez posible en un sistema de transporte de líquidos adecuado. Procesar las muestras lo antes posible después de la recogida. En

caso necesario, las muestras pueden conservarse a una temperatura de 2 a 8c durante un máximo de 72hrs o a -20c durante un máximo de siete días después de la recogida.

Es esencial seguir los métodos correctos de recogida de las muestras. No centrifugar las muestras antes de su uso con el análisis Directigen EZ VSR, ya que la eliminación del material celular afectará adversamente a la sensibilidad del análisis.

Toma y preparación de las muestras

Se ha demostrado que las muestras de lavados y aspirados nasofaríngeos son superiores a las torundas nasofaríngeas, por lo que constituyen las muestras de elección. Las muestras aceptables para el análisis con Directigen EZ VSR son las muestras de lavados nasofaríngeos, aspirados y torundas.

Procedimientos para muestras de lavados nasofaríngeos y torundas/ lavados

- 1.- se recomienda usar volúmenes de muestras de 2 a 3ml.
- 2.- deben evitarse los volúmenes de lavado excesivos, ya que podrían causar una disminución de la sensibilidad.
- 3.- procesar la muestra como se describe previamente.

Procedimientos para las torundas nasofaríngeas

- 1.- las muestras de torundas pueden añadirse a un volumen de 350ul a 2ml de medio de transporte.
- 2.- agitar en un mezclador tipo vortex la torunda y el medio de transporte

3.- eliminar de la torunda la mayor cantidad de líquido que sea posible.

Procedimiento para la muestras de aspirados nasofaríngeos

1.- las muestras pueden dispersarse en un volumen de 1ml a 3ml de medio de transporte o solución salina antes del procesamiento

2.- procesar la muestra tal como se describe.

Procedimiento

Procedimiento de análisis

- Los reactivos, las muestras y los dispositivos BD VSR deben estar a temperatura ambiente (15 a 30c) al utilizarlos para el análisis.
- Mezclar a conciencia todas las muestras antes de extraer una parte alícuota. No centrifugar las muestras antes de su uso con el análisis de directigen EZ VSR, ya que la eliminación del material celular afectará adversamente a la sensibilidad del análisis.
- Para garantizar una transferencia apropiada, los tubos DispensTube y los frascos de reactivos, deben mantenerse en posición vertical (aproximadamente a 2.5cm del pocillo de muestras del dispositivo BD VSR o del tubo DispensTube) mientras se transfiere el contenido de gota en gota, de forma rápida.

1.- Extraer un dispositivo BD VSR de su envase justo antes de su uso.

2.- Etiquetar un dispositivo BD VSR y un tubo DispemsTube para el control o la muestra que se va a analizar

3.- Colocar el tubo DispensTube etiquetado en el área de la estación de trabajo o la gradilla asignada

4.- Mezclar suavemente mediante inversión el reactivo E de extracción. Dispensar tres gotas en el tubo DispensTube. Mantener el frasco del reactivo en posición vertical (aproximadamente a 2.5cm del tubo Dispens tube) mientras se dispensan las gotas.

5.- Mezclar a conciencia la muestra o control y procesarlo tal como se describe a continuación:

a. Para las muestras:

1.- Agitar en el mezclador tipo vortex o mezclar a conciencia la muestra

2.- Pipetear 250ul de muestra en el tubo DispensTube

b.- Para los controles:

1.- Mezclar suavemente los viales de control positivo y de control negativo

2.- Añadir seis gotas de control positivo al tubo DispensTube correspondiente.

3.- Añadir seis gotas de control negativo al tubo DispensTube correspondiente.

6.- Insertar una punta DispensTube en cada tubo DispensTube

7.- Agitar en el mezclador tipo vortex o mezclar a conciencia.

8.- Invertir el tubo DispensTube y sujetándolo por la mitad superior lejos de la punta, presionar para dispensar suavemente tres gotas de la muestra extraída en el pocillo de la muestra BD RSV que tenga la etiqueta correspondiente.

9.- Leer los resultados a los 15 minutos o hasta un máximo de 60 minutos. Los resultados positivos pueden informarse ya a los 5 minutos siempre que las líneas de análisis y de control estén sensibles.

Control de calidad

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar la norma EP 12-A del CLSI y la norma 42 CFR 493.1202 como guía para las prácticas de control de calidad adecuadas.

Cada dispositivo BD VSR contiene controles incorporados. Las características de control incorporadas son:

Control interno; la aparición de una línea de control de color morado rojizo proporciona un control antigénico interno (control interno positivo) que sirve como comprobación del reactivo para el conjugado y el anticuerpo de captura, así como garantía de que el flujo capilar ha sido suficiente. La ausencia de esta línea indica un análisis no interpretable.

Control de la membrana de análisis (control interno negativo); la superficie de la membrana no reactiva situada alrededor del control interno positivo y las líneas de análisis contrastan con una reacción positiva y, por lo tanto, sirve como referencia basal para la interpretación del color de la reacción.

Interpretación de los resultados

Análisis positivo (presencia de antígenos): aparece una línea visible de color morado rojizo en la ventana de lectura junto a la "T" (análisis) y una línea de color morado rojiza junto a la "C" (control). Esto indica que se detectaron antígenos del VSR en la muestra. El área de fondo debe ser de color entre blanco y rosa claro.

Análisis negativo (no se ha detectado antígenos): no se observa una línea de color morado rojizo junto a la “T” (análisis). Esto indica que no se detectaron antígenos del VSR en la muestra. Una línea de color morado rojizo junto a la “C” (control) indica un rendimiento adecuado del procedimiento de análisis y de los reactivos. El área de fondo debe ser de color blanco y rosa claro.

Análisis no interpretable: si no aparece una línea de color morado rojizo junto a la “C” (control) o el color de fondo interfiere con la interpretación de la línea de análisis o de control, el análisis no es interpretable. Si el análisis no es interpretable, de repetirse, debe obtenerse y analizarse una nueva muestra o debe enviarse la muestra al laboratorio clínico para la realización de un aislamiento en cultivo.

Limitaciones del procedimiento

1.- El análisis Directigen EZ VSR es capaz de detectar partículas del VSR viables y no viables. El rendimiento del análisis Directigen EZ VSR depende de la carga antigénica y podría no tener correlación con un cultivo tisular realizado con la misma muestra. Con este análisis no puede determinarse la etiología de las infecciones respiratorias causadas por otros microorganismos distintos al VSR.

2.- La toma inadecuada de la muestra, la manipulación o transporte inapropiados de la muestra y niveles bajos de la siembra viral pueden producir un resultado falso negativo. Por consiguiente, un resultado negativo del análisis no excluye la posibilidad de una infección por el VSR. Como con cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados obtenidos con el análisis Directigen EZ VSR deben utilizarse junto con otros datos clínicos de los que se disponga el médico.

3.- En los inmunoensayos cromatográficos, es más probable que sean falsos positivos las líneas débilmente visibles que las líneas intensamente visibles. Como

con cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados obtenidos con el análisis Directigen EZ VSR deben utilizarse junto con otros datos clínicos de los que disponga el médico.

4.- No se ha comprobado la validez del análisis Directigen EZ VSR para la identificación o confirmación de cepas aisladas en cultivos titulares, por lo que no debe utilizarse con esta finalidad.

5.- El contenido del medio de transporte empleado debe revisarse con atención para determinar si contiene gelatina, los resultados se deben leer a los 15 minutos. Si la lectura se realiza después de este plazo, pueden aparecer líneas poco claras en la posición de análisis (T) de la ventana de la lectura.

6.- El medio de Amies en gel cultura Swab plus no es compatible con el análisis Directigen EZ VSR. La conservación de las muestras en este medio puede causar con el tiempo un resultado falso positivo.

7.- No se ha estudiado la reactividad cruzada de este ensayo con el metaneumonirus humano.

8.- Los anticuerpos monoclonales pueden no detectar todas las variantes antigénicas o las nuevas cepas del VSR.

9.- El análisis Directigen EZ VSR no se ha evaluado con un número suficiente de muestras de las vías respiratorias inferiores, torundas nasales inferiores, torundas nasales faríngeas y torundas faríngeas para estimar las características de rendimiento del análisis con estos tipos de muestras.

HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO
SERVICIO DE NEONATOLOGIA

PROTOCOLO; frecuencia del virus sincicial respiratorio en los pacientes con displasia broncopulmonar en la unidad de cuidados intensivos neonatales.

Nombre del recién nacido _____ expediente _____

Sexo _____ fecha de nacimiento _____ cunero _____

Fecha de ingreso _____ fecha de toma de muestra _____

Peso al nacer _____ edad gestacional _____

SA al nacer _____ tiempo de ventilación _____

Diagnosticos: _____

Displasia broncopulmonar: tipo de ventilación _____

FiO2(muestra) _____, síntomas respiratorios (sibilancias) _____

Tratamiento _____

Elaboró:

Dra. Judith Sánchez Rodríguez

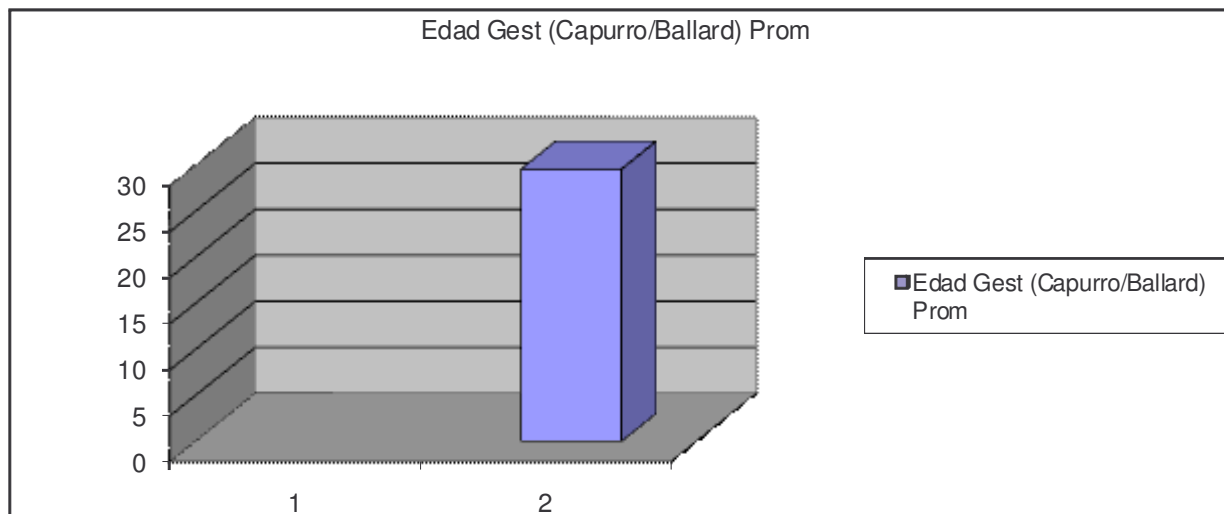
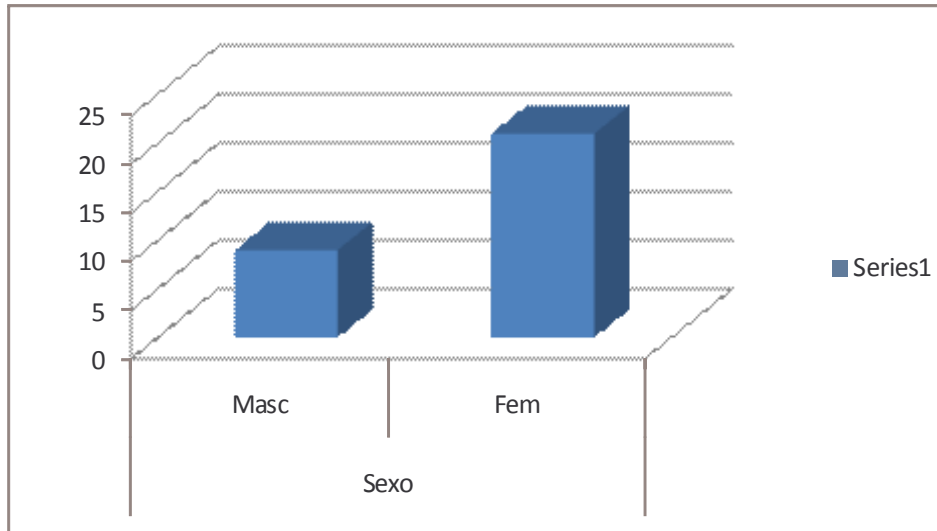
RESULTADOS

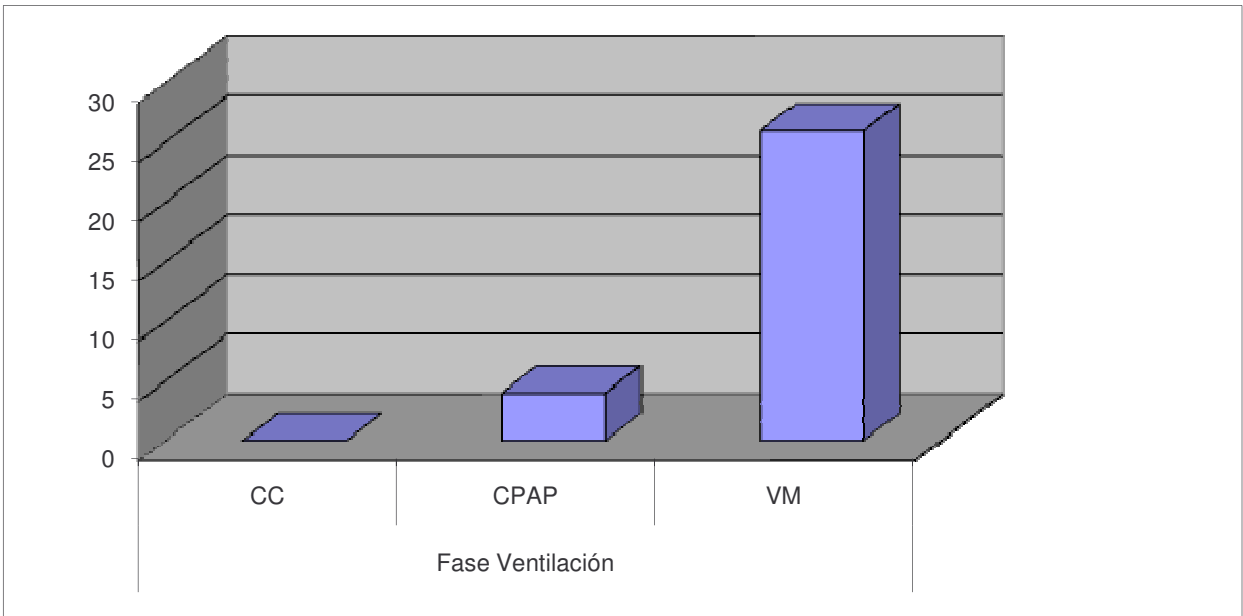
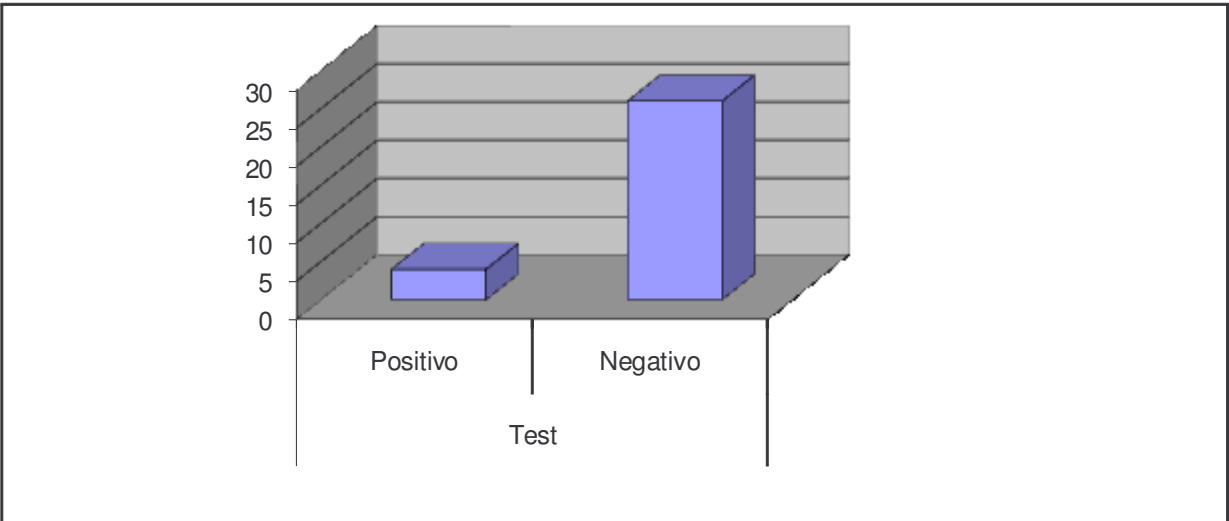
Se realizo estudio prospectivo en el Hospital Juárez de México, en la unidad de cuidados intensivos neonatales en 30 pacientes durante 01 de marzo de 2008 al 31 de octubre de 2008, en pacientes que cumplieron criterios de displasia broncopulmonar, a los cuales se les realizo test Directigen EZ (detección del virus sincicial respiratorio) en secreciones traqueales, como factor que influye en la displasia broncopulmonar y la necesidad de tratamiento específico para virus sincicial respiratorio en caso de obtener una incidencia alta, y así evitar este factor.

Se tomaron muestras de 30 pacientes de estos 9 masculinos y 21 femeninos, los cuales tuvieron como característica prematurez con edades gestacionales calculadas al nacer (de acuerdo a características físicas; Ballard o Capurro) de 26 semanas a 33.4 semanas con una media de 29.6 semanas. Con una estancia de 34 hasta 79 días con una media de 54 días en la unidad de cuidados intensivos y con un peso al nacer de 700g a 1500g con un promedio de 1145g y con Apgar al nacer calificado con escala de 1-10 al minuto y 5 minutos, con una media 5.8 y 7.9 respectivamente. Se reportan de estos 30 pacientes, patologías agregadas como síndrome de dificultad respiratoria en 23 pacientes, sepsis en 12 pacientes, ruptura prematura de membranas 11 pacientes, hiperbilirrubinemia multifactorial 8 pacientes, asfixiados 5 pacientes, cardiopatías congénitas 3 pacientes.

Sin embargo, cabe señalar que la muestra no se tomo de forma inmediata al nacer sino al cumplir con los criterios para ser diagnosticados con displasia broncopulmonar de lo cual llama la atención que 26 de 30 pacientes habían sido manejados con ventilación fase III (mecánica), y 4 de 30 con fase II (presión positiva continua de la vía aérea (CPAP), a los cuales se les aplico surfactante a 16 pacientes, y cuando se tomaron las muestras aun tenían un porcentaje de fracción inspiratoria de oxígeno 2 pacientes al 50%, 9 pacientes con 40%, 8

pacientes con 35%, 7 pacientes al 31%, y 4 pacientes al 28%. Y cuando se aplico el test solo 4 de 30 pacientes fueron positivos (13.3%).





CONCLUSION

Haciendo especial énfasis en los pacientes con test positivo; el primero masculino, con una edad gestacional de 28.0 semanas, pesó al nacer 770 gramos, apgar 3-6, durante su estancia se manejó con fase III de ventilación, y cuando se tomó la muestra con fracción inspiratoria de oxígeno del 35%, al cual se le aplicó surfactante, con una edad gestacional corregida 38.4, y estancia hospitalaria hasta ese momento de 74 días y un peso de 1400 gramos. El segundo paciente femenino, con edad gestacional 29 semanas, pesó al nacimiento 1170 gramos, apgar 5-8, con fase II de ventilación, y al tomar el test con una fracción inspiratoria de oxígeno del 50%, con una edad gestacional corregida de 37.5 semanas y una estancia hospitalaria hasta el momento de 61 días y un peso de 1650 gramos. El tercer paciente masculino de 27 semanas de gestación con un peso de 850 gramos, y apgar 7-8, durante su estancia manejado con ventilación fase III, al tomar el test con una fracción de oxígeno inspiratoria del 40% al cual se le aplicó dosis única de surfactante y con edad corregida de 34.6 y con 55 días de estancia hospitalaria con un peso de 1250 gramos. El cuarto paciente femenino de 26 semanas de edad gestacional, con un peso de 700 gramos, con apgar 6-8, tratado con fase III de ventilación, y al tomar el test con una fracción inspiratoria de oxígeno del 40%, se le aplicó dosis de surfactante, con una edad gestacional corregida de 35.2, con una estancia hospitalaria hasta ese momento de 60 días.

Estos pacientes fueron positivos en estaciones del año con poca afluencia del virus, por lo cual no podemos decir que no influyó en el resultado. Sin embargo son pacientes con larga estancia hospitalaria.

Concluimos que en nuestra muestra, el virus sincicial respiratorio tiene una baja incidencia en los pacientes con displasia broncopulmonar como factor de riesgo y que pese a que los pacientes con test positivo fueron de predominio prematuros con peso extremadamente bajo al nacer, y con ventilación mecánica, así como

con una estancia hospitalaria mayor a 55 días no es absoluto para tener virus sincicial respiratorio, por ende hasta el momento no se justifica el tratamiento del mismo. Se sugiere realizar control con una muestra mayor y tal vez corroborarlo con la estación del año para poder predecir si esto influye de forma absoluta, o son otros factores los involucrados.

En estudios multicéntricos realizados en siete centros clínicos durante 2001- 2002 del virus sincicial respiratorio. Los centros clínicos estaban ubicados en Canadá y en diversos centros de Estados Unidos.

Todas las muestras tomadas conforme al procedimiento de cada laboratorio. Cada muestra fue evaluada mediante el análisis Directigen EZ RSV y cultivo celular, para el cultivo celular se inoculó una parte de la muestra en las estirpes celulares apropiadas para aparición de efectos citopáticos en las células. Se confirmó la presencia del virus sincicial respiratorio en las células infectadas mediante tinción inmunofluorescentes. Las muestras sin efectos citopáticos a los 14 días se tiñeron para la confirmación del resultado negativo mediante tinción inmunofluorescente específica de la especie.

Se evaluó con el análisis Directigen EZ RSV un total de 1176 muestras de lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, torundas nasofaríngeas y torundas/lavados nasofaríngeas de pacientes con sospecha de infección por el virus sincicial respiratorio.

Para todas las muestras evaluadas, la sensibilidad y especificidad globales del análisis Directigen EZ RSV para el virus sincicial respiratorio en comparación con el cultivo fueron del 80% y el 91%, respectivamente.

Tipo de muestra	n	Cultivo /EZ				Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
		+/+	-/+	+/-	-/-		
Lavado nasofaríngeo	348	129	29	19	171	87.2 (80.7-92.1)	85.5 (79.8-90.1)
Aspirado nasofaríngeo	401	90	24	27	260	76.9 (68.2- 84.2)	91.6 (87.7- 94.5)
Torunda o lavado	160	28	6	11	115	71.8 (55.1-85.0)	95.0 (89.7- 98.2)
Torunda nasofaríngea	267	20	20	10	217	66.7 (47.2-82.7)	91.6 (87.3- 94.8)

(+) VSR positivo, (-) VSR negativo

Setenta y nueve muestras tuvieron un resultado negativo en el cultivo y un resultado positivo en el análisis Directigen EZ RSV. Se realizó un análisis de PCR en 73 de las 79 muestras; de ellas, 46 tuvieron un resultado positivo mediante PCR.

Los resultados positivos en el análisis Directigen EZ RSV se distribuyeron en un intervalo de líneas desde débilmente visibles a intensamente visibles. De las 70 muestras con un resultado positivo en el análisis Directigen EZ RSV con líneas débilmente visibles, 39 tuvieron un cultivo positivo y un total de 58 tuvo un resultado positivo con uno o más métodos (es decir, cultivo o PCR). De las 170 muestras con un resultado positivo en el análisis Directigen EZ RSV con líneas visibles, 140 tuvieron un cultivo positivo y un total de 166 tuvo un resultado positivo con uno o más métodos (es decir, cultivo o PCR). De las 106 muestras con un resultado positivo en el análisis Directigen EZ RSV con líneas intensamente visibles, 98 tuvieron un cultivo positivo y un total de 106 tuvo un resultado positivo con o uno o más métodos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bancalari, E, Claure N. DEFINITIONS AND DIAGNOSTIC CRITERIA FOR BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA. Semin perinatol. 2006;30:164-170
- 2.- Chess P.R, Carl T. D Angio, Gloria S. Pryhuber, MD, William M, Maniscalco, MD. PATHOGENESIS OF BRONCOPULMONARY DYSPLASIA. Semin Perinatol. 2006; 30:171-178.
- 3.- Jaqueline J. Coalson, PhD. PATHOLOGY OF BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA. Seminars Perinatol. 2006;30:179-184.
- 4.- Simoes,EA, Groothuis JR, Carbonell-Estrany X, Rieger CH, Mitchell I, Fredrick LM, Kimpen JI.PALIVIZUMAB PROPHYLAXIS, RESPIRATORY SYNCITIAL VIRUS, AND SUBSEQUENT RECURRENT WHEEZING.J.pediatr.2007;151:34-42.
- 5.- Feltes T,F. Cabalka A,K, Meissner, C. Piazza F,M. Connor E,M. PALIVIZUMAB PROPHYLAXIS REDUCES HOSPITALIZATION DUE TO RESPIRATORY SYNCITIAL VIRUS IN YOUNG CHILDREN WITH HEMODYMICALLY SIGNIFICANT CONGETITAL HEART DISEASE. J Pediatr. 2003;143:532-540.
- 6.- Ehrenkranz R,A, Walsh R,B. Jobe L,L. Fanaroff, A,A. VALIDATION OF THE NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH CONSENSUS DEFINITION OF BRONCHOPULMONAY DYSPLASIA. Pediatrics, 2005;116:1353-1360.
- 7.- Payne R,N. Lacorte M, Karna P. Lewis-Hunstiger, M. EVALUATION AND DEVELOPMENT OF POTENTIALLY BETTER PRACTIES TO REDUCE BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA IN VERY LOW BIRTH WEIGT INFANTS. Pediatrics, 2006;118: S65-S72

8.- Meissner H,C. Sarah, S. REVISED INDICATIONS FOR THE USE OF PALIVIZUMAB AND RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS IMMUNE GLOBULIN INTRAVENOUS FOR THE PREVENTION OF RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS INFECTIONS. Pediatrics 2003;112:1447-1452.

9.- Giubergia,V. Martinchuk, G. Moreno, N. Colombres, G. Viale, D. Murtagh P. GRAVEDAD DE LA INFECCION POR VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO EN PACIENTES CON FACTORES DE RIESGO Y SIN ELLOS. Arch. argent pediatr. 2004;102:330-334.