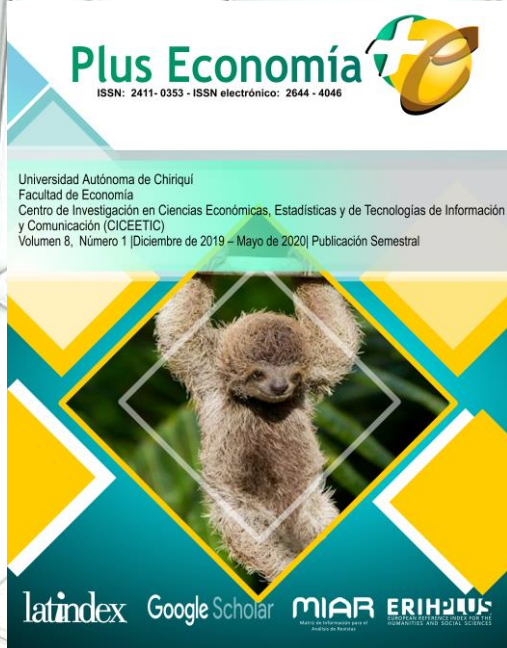




- › Revista Plus Economía
- › ISSN: 2411-0353
- › ISSN electrónico: 2644-4046
- › pluseconomia@unachi.ac.pa
- › Centro de Investigación en Ciencias Económicas, Estadísticas y de Tecnologías de Información y Comunicación, CICEETIC
- › Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI)
- › República de Panamá



Castillo, Rosario y Ricardo Saldaña

Virus Sincicial Respiratorio en Chiriquí

Vol. 8, Núm. 1, Diciembre 2019 – Mayo 2020

pp. 4-15

Hospital José Domingo de Obaldía, Panamá.



+ | VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO EN CHIRIQUÍ

Rosario Castillo-Vigil | Universidad Autónoma de Chiriquí, Centro de Investigaciones en Parasitología y Microbiología | correo electrónico: charotecno@hotmail.com

Ricardo Saldaña | Hospital José Domingo de Obaldía.

Recibido: Febrero de 2020

Aceptado: Marzo de 2020

Resumen

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) son la mayor causa de hospitalización en niños menores de cinco años; principalmente causada por virus respiratorios. El Virus Sincicial Respiratorio (VRS) se le responsabiliza del 75% de las bronquiolitis y del 50% de las neumonías de niños menores de 2 años.

Este es un estudio descriptivo que se realizó utilizando la técnica de RT-PCR y en los meses de febrero a agosto de 2015, se incluyeron niños menores de cinco años hospitalizados o atendidos en cuarto de urgencias pediátricas del Hospital Infantil José Domingo de Obaldía quienes presentaron síntomas respiratorios. Se obtuvieron 481 muestras de exudados nasofaríngeos de los niños resultando 317 positivas por virus respiratorios. El virus con mayor frecuencia fueron: Rinovirus (RV) en 123 pacientes (25.6%), Metapnovirus (MPV) en 47 (8%), Parainfluenza (PI) 3 en 42 pacientes (8.7%), Virus Sincicial Respiratorio (VRS) en 38 (7.9%), Adenovirus (Ad) en 27 (5.6%), y en menos frecuencia Parainfluenza en dos pacientes (0.4%) así como Influenza A H3N2 en 4 pacientes (0.8%). El virus respiratorio más frecuente fue el Rinovirus. El estudio pretende hacer de conocimiento la incidencia de las infecciones respiratorias en Chiriquí, y la presencia del virus Sincicial Respiratorio ya que son de emergencia de salud pública según la definición del Reglamento Sanitario Internacional.

Palabras claves: infección respiratoria aguda, virus respiratorios, Metapnovirus, Parainfluenza, Virus Sincicial Respiratorio.



Abstract

Acute respiratory infections (ARI) are the major cause of hospitalization in children under five years of age; mainly caused by respiratory viruses.

Respiratory Syncytial Virus (RSV) is responsible for 75% of bronchiolitis and 50% of pneumonia in children under 2 years.

This is a descriptive study that was carried out using the RT-PCR technique, between in the months of February to August 2015, children under five years of age were also included or were treated in a pediatric emergency room of the José Domingo de Obaldía Hospital , and they presented respiratory symptoms. 481 samples of nasopharyngeal exudates were obtained from children, with 317 positive for respiratory viruses. The virus that was found most frequently were: Rhinovirus (RV) in 123 patients (25.6%), Metapnovirus (MPV) in 47 (8%), Parainfluenza (PI) 3 in 42 patients (8.7%), Respiratory Syncytial Virus (RSV) in 38 (7.9%), Adenovirus (Ad) in 27 (5.6%), and less frequently Parainfluenza 2 in two patients (0.4%) as well as Influenza A H3N2 in 4 patients (0.8%). The most frequent respiratory virus was Rhinovirus.

Keywords: acute respiratory infections, respiratory viruses, metapnovirus, parainfluenza, respiratory syncytial virus.

Introducción

Las infecciones respiratorias (IRA) son una causa de morbilidad en niños a nivel mundial. El 70% de las infecciones respiratorias superiores son de etiología viral, como lo reflejan muchos estudios realizados. Los virus son los principales causantes de procesos infecciosos en vías respiratorias en niños siendo un

problema prioritario de salud a nivel mundial, y teniendo impacto en las tasas de morbilidad infantil. Las IRA presentan epidemias anuales en estaciones frías y aumentan la demanda de atención de salud tanto a nivel ambulatorio como hospitalario (Wong *et al.*, 2010 y Martínez y León, 2009).

Estas infecciones se clasifican en altas y bajas según su localización, y pueden



ser producidas por varios microorganismos, principalmente los virus; entre ellos, el de parainfluenza, el de las influencias A y B, el adenovirus, el coronavirus, el respiratorio sincicial y el rinovirus. Bajo este término se incluyen aquellos procesos infecciosos que afectan las estructuras del aparato respiratorio, con una duración de 7 a 14 días, los cuales pueden extenderse, en ocasiones, hasta 4 semanas.¹⁻³ (Goide *et al.* 2014).

Las IRA ocasionadas por este virus; se observan tanto en pacientes ambulatorios como hospitalizados en distintas proporciones; y la severidad va depender de cada virus y de la población de riesgo (Avendaño *et al.*, 1999)

Se ha asociado las IRAB infantiles, y de adultos, con brotes de virus respiratorios especialmente VRS e influenza (Flu). La etapa preescolar es el período de la infancia con la tasa de incidencia de asma más elevada y es por lo tanto una etapa en la que el papel de las infecciones virales en su patogénesis podría ser de máxima importancia (Gern, 2000).

Cada año hay un número elevado de infecciones respiratorias que se manifiestan en un aumento en la atención de salud, tanto ambulatoria como hospitalaria. Las infecciones respiratorias agudas bajas (IRAB), que incluyen bronconeumonías, síndrome bronquial obstructivo, bronquiolitis, neumonitis, entre otras; tienen un rol protagónico como causa de hospitalizaciones y representan la primera causa de mortalidad infantil tardía.

En países de climas templados y tropicales demostraron un patrón viral repetitivo en cuanto a los ciclos epidémicos del virus Sincicial respiratorio (VRS), he indicaban que este virus ocurre frecuentemente durante los meses fríos o lluviosos, demostrando una relación entre el aumento de hospitalizaciones por neumonías y bronquiolitis en menores de 2 años, y el hecho que el virus VRS fue el agente más común en Costa Rica. Por lo anterior expuesto, indica que este virus es de suma importancia en las infecciones respiratorias. Este virus es capaz de producir reinfecciones leves, por lo que puede llegar a circular durante todo el año, pero los picos



epidémicos generalmente ocurren solo una vez al año y en niños menores de doce meses (Uribe y Martínez, 1988)

La severidad del cuadro clínico provocado por una infección con el VSRH está asociada con factores epidemiológicos y del hospedero. Diferentes estudios han intentado relacionar tal severidad con los diferentes subgrupos y genotipos del VSRH, sin encontrar relación significativa entre ellos (Corzo-López y Valdés, 2013).

La detección de estos agentes ha sido mejorada a través de pruebas de diagnóstico molecular ganando suma importancia con el desarrollo de estos ensayos moleculares como lo es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), capaces de detectar muchos virus respiratorios y sus variantes, aumentando la sensibilidad e identificando un número mayor de agentes virales (Lira *et al.* 2013). La detección simultánea de un amplio espectro de virus permite el diagnóstico y evaluación certera de coinfección viral.

El estudio pretende hacer de conocimiento la incidencia de las infecciones respiratorias en Chiriquí, ya

que son de emergencia de salud pública según la definición del Reglamento Sanitario Internacional y conocer la importancia de la aparición de estos virus que causan infecciones respiratorias agudas en pacientes menores de cinco años que se atendieron en Hospital Materno infantil utilizando la prueba de PCR como método diagnóstico.

Esta investigación tiene como objetivo conocer a la incidencia de virus Sincial respiratorio en niños menores de cinco años atendidos en Chiriquí y la frecuencia de virus respiratorios en niños con cuadros respiratorios así como la comparación de la incidencia de los virus respiratorios en los diferentes meses del estudio.



Método

Población de estudio: Se incluyeron niños menores de cinco años hospitalizados o que se atendieron en el cuarto de urgencias pediátricas del Hospital Infantil José Domingo de Obaldía que presentaron síntomas respiratorios y a quienes se tomó una muestra nasofaríngea por hisopado para identificación viral de febrero a agosto de 2015. , en un plazo de < 72 horas del inicio de los síntomas

El estudio está basado en el Manual de Procedimiento de Detección Molecular de Influenza y Otros Virus Respiratorios de la Sección de Virología y Biotecnología del Instituto Conmemorativo Gorgas aplicado en el Laboratorio del Hospital José Domingo de Obaldía.

Toma de la muestra

Se midió con la sonda de diámetro menor desde la aleta de la fosa nasal hasta el lóbulo de la oreja, medida que se introducirá el hisopo de rayón en la fosa nasal del paciente.

Se tomaron las muestras con la ayuda **de un** hisopo de rayón estéril por la fosa

nasal del paciente y progresar con cuidado hacia arriba y hacia atrás hasta llegar a la zona nasofaríngea.

Se **realizó un** escobillado (frotado), girando el hisopo con movimientos circulares en la nasofaringe para recoger células de descamación de la mucosa faríngea. (No se debe recoger moco o saliva, ya que se contamina la muestra con bacterias comensales de la boca).

Se realizó el procedimiento con mucha precaución para evitar que el paciente presente complicaciones como hemoptisis, dolor, sensación de falta de aire.

Se envió inmediatamente la muestra en refrigeración a 4°C y adecuadamente rotulada con lapicero señalador (Marcador) al laboratorio.

Metodología RT-PCR en Tiempo Real Reactivos

Kit de sonda de hidrólisis one-step quantitative RT-PCR (ej. Taqman®)

Roche MagNA Pure Total Nucleic Acid Kit para la extracción de las muestras,

Agua destilada estéril de grado molecular (libre de RNasa y DNasa).

Cebadores (primers) forward y reverse



(40 μ M). Sondas (*probes*) con marcación dual (10 μ M) (dual-labeled *probes*).
Controles positivos

Materiales

- Gradillas (*racks*) refrigerantes para tubos de minicentrífuga de 1.5
- Tubos de reacciones de PCR 0.2ml de 96 pocillos.
- Tira de tubos (tube strips) o placas de reacción de PCR de 0.2ml
- Tapas de tiras ópticas (optical strip caps)
- Tubos para minicentrifuga estériles, libres de nucleasa, de 1.5 ml
- Guantes desechables sin talco.
- Marcadores punta fina para rotular

Extracción de ácido nucleico: el desempeño de la sonda basada en amplificación de RT-PCR depende de la cantidad y calidad de la muestra RNA. Los procedimientos de la extracción de RNA deben ser calificados y comprobados por recuperación y pureza antes de examinar las muestras. Se ha comprobado que los procedimientos de extracción disponibles comercialmente, incluyendo QIAamp® Viral RNA Mini Kit, or RNeasy®Mini Kit (Qiagen), kit de

aislamiento de RNA Roche MagNA Pure Compact, kit de aislamiento MagNA Pure LC RNA Isolation Kit II, y Roche MagNA Pure Total Nucleic Acid Kit generan RNA altamente purificado cuando se siguen las recomendaciones de los fabricantes para la extracción de las muestras.

Resultados y discusión

De las 481 muestras nasofaríngeas de pacientes en menores de cinco años que fueron enviadas para detección por virus respiratorios resultaron 317 positivas representando el 65.9% para virus respiratorios por Virus respiratorios con IRA.

Tabla 1. . Cantidad de muestras analizadas en niños menores de cinco años con IRA.

Positivas	317	65.9%
Negativas	164	34.1%
Total	481	100%

Fuente: Castillo, 2015.

Se encontraron los virus en diferentes épocas del año. Como se describe en la Figura 1, al igual coinfecciones Figura 4,



el virus de mayor frecuencia es el Rinovirus

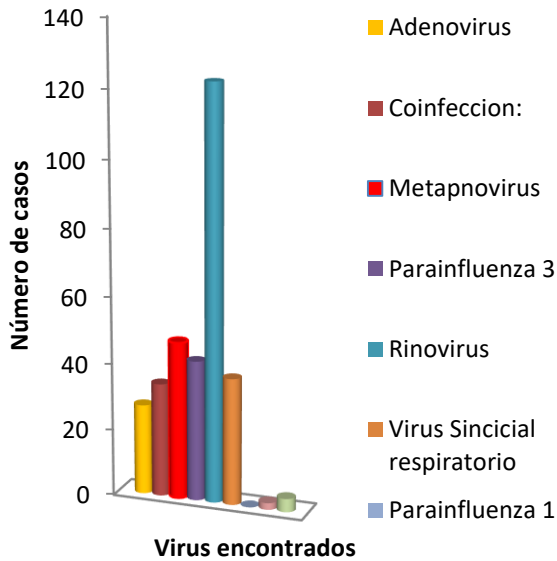


Figura 1. Virus Respiratorios encontrados en niños menores de cinco años. - Muestras analizadas en niños menores de cinco años de febrero a agosto e 2015. **Fuente:** Castillo, 2015

Según las edades los virus respiratorios causante de Infecciones respiratorias altas era más frecuente encontrarlos en niños menores de 1 año (Figura 2).

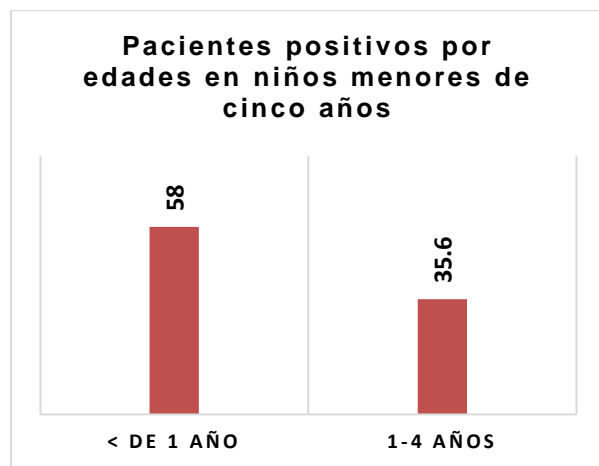


Figura 2. Representación gráfica de las muestras analizadas con sospecha de IRA.

En la figura 3 se observa que el Rinovirus es el virus que se encontró con mayor frecuencia en todos los meses de estudio, el Virus Sincial respiratorio tuvo un aumento en los meses de julio y agosto así como el Metapnovirus, el H₃N₂ se encontró en el mes de agosto.

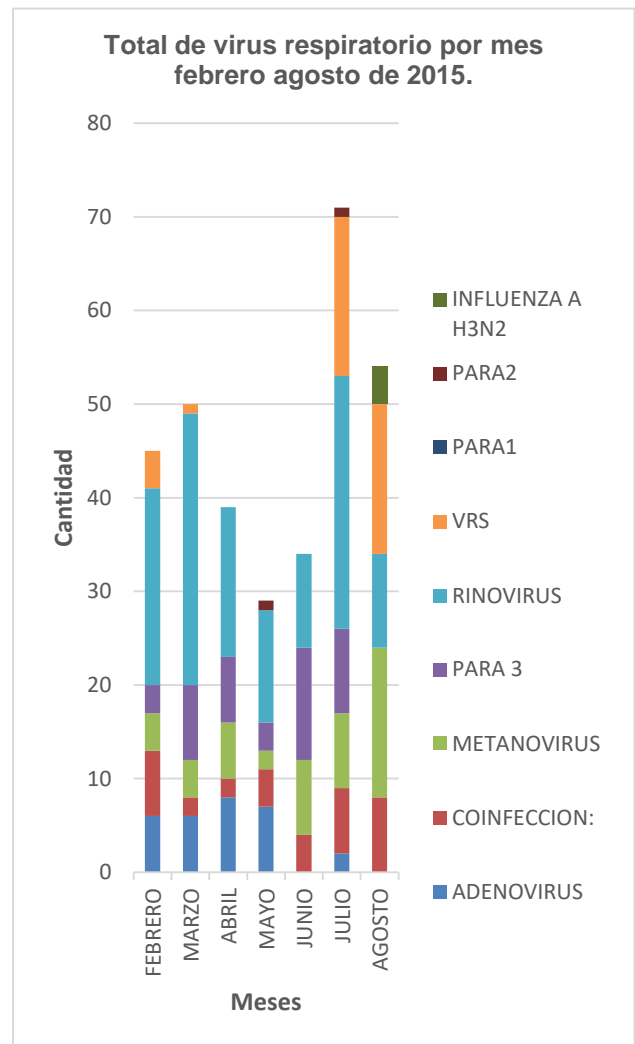


Figura 3: Virus respiratorios en los meses de febrero a agosto de 2015. **Fuente:** Castillo, 2015



El estudio coincide con los resultados encontrados por Vidaurreta en 2011, el virus que se encontró con mayor frecuencia fueron Rinovirus detectado en 123 pacientes (25.6%), Metapnovirus en 47 (8%), Parainfluenza 3 en 42 pacientes (8.7%), Virus Sincicial Respiratorio en 38 (7.9%), Adenovirus en 27 (5.6%), y en menos frecuencia Parainfluenza 2 en dos pacientes (0.4%) así como Influenza A H3N2 en 4 pacientes (0.8%).

Las coinfecciones virales se detectaron en 34 pacientes siendo la más frecuente la del Rinovirus con el Sincicial Respiratorio coincidiendo con el estudio realizado por Martínez, Caballero, Sánchez, López, y Bonet (2015); otro virus que encontramos fue el Rinovirus con el Adenovirus con la misma cantidad de pacientes encontrados (Figura 4).

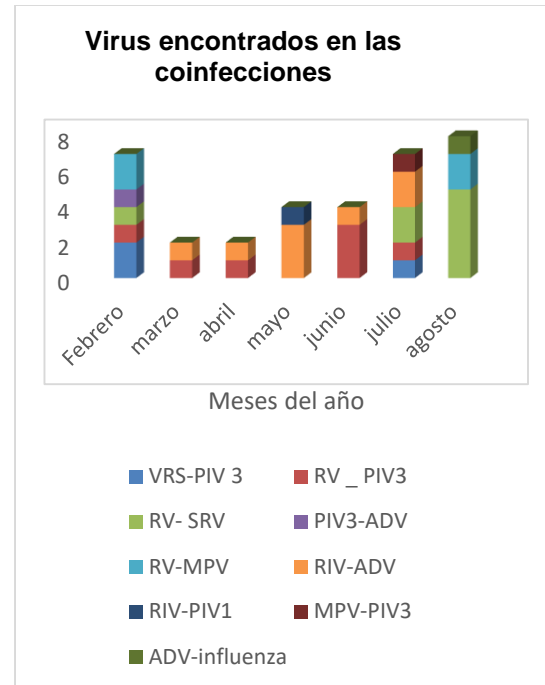


Figura 4. **Frecuencia de Virus en las Coinfecciones**

Este estudio coincide con el de Vidaurreta 2011 que el virus con mayor frecuencia observados fue el RVH, si bien se observó circulación viral durante los meses muestreados, muestra que la mayor detección de virus ocurrió febrero, marzo y julio de 2015, se presentó principalmente en los meses invernales pero sin llegar a desaparecer en los demás meses.

Según Luchsinger, Escobar, Avendaño, y Fidel (2005) el Metanpnovirus (hMPV) al igual que el virus respiratorio sincicial (VRS), pertenecen a la misma familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Pneumovirinae*, pero en un género diferente, *Metapneumovirus* su



aparición puede ser tan grave que puede haber complicaciones, fue el segundo virus que aparece con mayor frecuencia en este período que corresponde al inicio de la estación lluviosa junto el Virus Sincicial Respiratorio aumenta en las temporadas lluviosas como lo fueron en los meses de julio y agosto coincidiendo con lo que dice Avendaño et al 2003.

En el mes de febrero de muestras de los pacientes con sintomatología fueron 71, el virus que más prevaleció fue el del Rinovirus con 21 muestras seguido de Adenovirus con 6, el Metapnovirus con 4 y de Virus Sincicial Respiratorio fue de 4 pacientes y una coinfección de 7 pacientes.

En marzo 75 muestras de niños menores de cinco años con sospechas de enfermedades respiratorias se encontraron 29 pacientes con Rinovirus, 6 con Adenovirus, de Parainfluenza 3 se encontraron 8, de Virus Sincicial Respiratorio se encontraron 1 y con coinfección 2.

En julio se atendieron 92 pacientes resultado el Rinovirus con 26 pacientes, 17 con Virus Sincicial Respiratorio, 9 con Parainfluenza 3, con Metapnovirus

fueron 8, a su vez se encontraron 7 con coinfección y 2 Adenovirus.

En agosto Virus Sincicial Respiratorio fue de 16 igual que el Metapnovirus seguido por el Rinovirus que se encontraron 10, el Virus de Influenza A H3N2 se encontró 4 y coinfección se encontraron 8.

Según Chávez 2014 el virus sincicial respiratorio infecta a la población pediátrica, es en determinados grupos de población de riesgo donde provoca una infección respiratoria que progresa más frecuentemente a las vías respiratorias inferiores, provocando un cuadro de mayor gravedad, con mayor necesidad de ingresos. Se calcula que entre el 11 al 19 % de los niños menores de un año enfermarán de bronquiolitis, de ellos el 15 % requerirán hospitalización y el 70-90 % de estas infecciones son producidas por estos virus.

En febrero, marzo, abril y mayo las coinfecciones eran más frecuentes en niños menores de 1 año; en junio hubieron 25 menores de 1 año y 8 mayores de 1 año la relación era e 1:3 en agosto se aumentó la población igual en niños menores de 1 año.



En los meses de febrero y marzo la estación seca o verano está bien marcado pero el Rinovirus es el más frecuente en niños menores de 1 año.

En los meses de abril y mayo el Rinovirus es el virus que se encuentra con mayor frecuencia tanto en niños menores de 1 año y aquellos en rango de 1 a 4 años.

El Metapnovirus estuvo presente en los meses de febrero a agosto pero tuvo su incremento en los meses de junio y agosto.

Conclusiones

1. En niños menores de 1 año con sibilancias mostraron Infecciones Respiraciones altas.
2. Los meses con mayor incidencia de virus respiratorios fueron marzo, julio y agosto.
3. El virus respiratorio más frecuente, detectado en muestras de exudados faríngeos en el mes agosto.
4. Los pacientes con sospecha de IRA el virus más frecuente encontrado fue el Rinovirus.
5. En los meses de Julio y agosto hubo aumento de Virus Sincicial Respiratorio y el Metapnovirus en niños menores de 1 año esta puede progresar en las vías

respiratorias provocando un cuadro de mayor gravedad y se demuestra un aumento en estos picos invernales por el aumento de las atenciones pediátricas.

6. Los casos de Coinfecciones donde se encontraba más de un Virus estaba el Rinovirus también fue el más frecuente con los otros.
7. Las estaciones del año en Panamá no han sido limitantes en la aparición de los virus respiratorios en niños menores de cinco años.
8. No se detectaron casos de Virus de Influenza H1N1, se encontró fue el Virus de Influenza H2 N3 estacional.
9. La aplicación del método molecular para el diagnóstico de Virus respiratorios permitió identificar agentes etiológicos en la gran mayoría de los pacientes con IRA hospitalizados.
10. El diagnóstico virológico molecular ha adquirido es una herramienta para el desarrollo de nuevos ensayos moleculares, en algunos casos capaces de detectar muchos virus respiratorios simultáneamente.

Agradecimiento

Al finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades no hubiera sido posible sin el aporte ni la participación de personas e instituciones que han colaborado para que alcanzar con nuestro objetivo. Por ello, es



para mí un verdadero placer utilizar este espacio para ser justo y consecuente con ellas, expresándoles mis agradecimientos.

Referencias.

- Adarme, L. V. Á., & Castellanos, J. E. (2015). Diagnóstico virológico de la infección por virus Sincicial respiratorio. *Revista Salud Bosque*, 3(1), 23-36.
- Avendaño, L. F., Céspedes, A., Stecher, X., & Palomino, M. A. (1999). Influencia de virus respiratorios, frío y contaminación aérea en la infección respiratoria aguda baja del lactante. *Revista médica de Chile*, 127(9), 1073-1078.
- Avendaño, L. F., Parra, J., Padilla, C., & Palomino, M. A. (2003). Impacto en salud infantil del invierno 2002: disociación entre factores ambientales y virus respiratorio sincicial, en Santiago. *Revista médica de Chile*, 131(8), 902-908.
- Corzo-López, M., & Valdés-Ramírez, O. (2013). El virus sincicial respiratorio humano: una panorámica. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(2).
- Chávez González, N., Sánchez Pérez, Y., Elías Montes, Y., & Montes de Oca Alemán, C. (2014). Nuevos virus respiratorios emergentes diagnosticados por exudado nasofaríngeo. *Correo Científico Médico*, 18(2), 248-258.
- García García, M. (2010). Infecciones respiratorias por virus emergentes. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, España.
- Gern, J. E., & Busse, W. W. (2000). The role of viral infections in the natural history of asthma. *Journal of allergy and clinical immunology*, 106(2), 201-212.
- Gern, J. E., & Busse, W. W. (2000). The role of viral infections in the natural history of asthma. *Journal of allergy and clinical immunology*, 106(2), 201-212.
- Goide Linares, E., Begué Dalmau, N., Martín Jiménez, M., Anaya Gómez, Y., & Nillar Vázquez, Y. (2014). Infecciones respiratorias agudas por virus en niños y adolescentes del municipio de Palma Soriano. *Medisan*, 18(9), 1247-1253.
- Grijalva Díaz, M. J. (2012). Identificación y genotipificación de Virus Respiratorio Sincicial Humano (VRSH) mediante RT-PCR, en muestras respiratorias de niños en edad escolar con asma en el Hospital Baca Ortiz de Quito-Ecuador (Doctoral dissertation, SANGOLQUÍ/ESPE/2012).
- Henrickson, K. J. (2005). Cost-effective use of rapid diagnostic techniques in the treatment and prevention of viral respiratory infections. *Pediatric annals*, 34(1), 24-31.
- Jang-Mi Kwon, MD, Jae Won Shim, MD, PhD, [...], and Jung Yeon Shim, MD, PhD
- Kwon, J. M., Shim, J. W., Kim, D. S., Jung, H. L., Park, M. S., & Shim, J. Y. (2014). Prevalence of respiratory viral infection in children hospitalized for acute lower respiratory tract diseases, and association of rhinovirus and influenza virus with asthma exacerbations. *Korean journal of pediatrics*, 57(1), 29-34.
- Lira, D., Collao, F., & Peña, C. (2013). Identificación de virus respiratorios en pacientes pediátricos con infecciones respiratorias en el Hospital Carlos Van Buren, Valparaíso. Época estival 2011-2012. *Rev. ANACEM (Impresa)*, 7(2), 70-74.



- Lu, Y., Wang, S., Zhang, L., Xu, C., Bian, C., Wang, Z., ... & Ni, C. (2013). Epidemiology of human respiratory viruses in children with acute respiratory tract infections in Jinan, China. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013.
- Luchsinger, V., Escobar, C., Avendaño, C., & Fidel, L. (2005). Detección de metapneumovirus humano en niños hospitalizados por infección respiratoria aguda baja en Santiago, Chile. *Revista médica de Chile*, 133(9), 1059-1064.
- Maffey, A. F., Venialgo, C. M., Barrero, P. R., Fuse, V. A., Márques, M. D. L. A., Saia, M.,... & Mistchenko, A. (2008). Nuevos virus respiratorios en niños de 2 meses a 3 años con sibilancias recurrentes. *Arch Argent Pediatr*, 106(4), 302-309.
- Martínez-González, G., & León-Sicairos, N. (2009). Prevalencia de virus respiratorios en niños con neumonía en el Hospital Pediátrico de Sinaloa. *Revista de Pediatría mexicana*, 2(2), 32-42.
- Martínez-Roig, A., Salvado, M., Caballero-Rabasco, M. A., Sanchez-Buenavida, A., Lopez-Segura, N., & Bonet-Alcaina, M. (2015). Viral coinfection in childhood respiratory tract infections. *Archivos de Bronconeumología (English Edition)*, 51(1), 5-9.
- Mejía Nuñez, M. R. (2007). Identificación de virus respiratorios y serotipo de influenza que afectan a la población que asiste a las unidades locales de salud de San Pedro Sula y Tegucigalpa (Doctoral dissertation).
- Portillo, C. M., & Cruz, J. (2000). Implementación del método rápido de diagnóstico de virus por inmunofluorescencia en niños hospitalizados por infecciones respiratorias agudas. *Revista chilena de pediatría*, 71(1), 72-77.
- Rey, C. C., García, M. G., Flecha, I. C., & Breña, P. P. Infecciones respiratorias virales. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica.
- Tulloch, F., Correa, R., Guerrero, G., Samaniego, R., García, M., Pascale, J. M., ... & Marchena, L. (2009). Profile of the first cases hospitalized due to Influenza A (H1N1) in Panama City, Panama. May-June 2009. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 3(11), 811-816.
- Uribe, L. H., & Martínez, H. V. (1988). Infección respiratoria en Costa Rica en dos grupos de edad. *Revista costarricense de ciencias médicas*, 9, 35.
- Vidaurreta, S. M., Marcone, D. N., Ellis, A., Ekstrom, J., Cukier, D., Videla, C., . & Echavarría, M. (2011). Infección respiratoria aguda viral en niños menores de 5 años: Estudio epidemiológico en dos centros de Buenos Aires, Argentina. *Arch. argent. pediatr*, 109(4), 296-304.
- Wong-Chew, R. M., Farfán-Quiroz, R., Sánchez-Huerta, J. L., Nava-Frías, M., Casasola-Flores, J., & Santos-Preciado, J. I. (2010). Frecuencia de virus respiratorios y características clínicas de niños que acuden a un hospital en México. *Salud pública de México*, 52(6), 528-532.
- World Health Organization (WHO). (2009). Protocolo del CDC para el RT-PCR en tiempo real para el nuevo subtipo del virus de influenza A (H1N1). In *Protocolo del CDC para el RT-PCR en tiempo real para el nuevo subtipo del virus de influenza A (H1N1)*. World Health Organization