

Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Volumen
Volume 15

Número
Number 2

Octubre-Diciembre
October-December 2002

Artículo:

Adenovirus en un grupo de pacientes con infección respiratoria aguda

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

**Otras secciones de
este sitio:**

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)



www.Medigraphic.com

Adenovirus en un grupo de pacientes con infección respiratoria aguda

Ma. Eugenia Manjarrez*

Dora P. Rosete*

Aída Navas*

Julio Santiago*

Ignacio Calderón‡

Rocío Chapela§

Palabras clave: Infección respiratoria aguda, adenovirus, infección del tracto respiratorio, infección viral de vías respiratorias, infección respiratoria, virus respiratorios.

Key words: Acute respiratory infection, adenovirus, respiratory tract infection, viral infection of airway, respiratory infection, respiratory viruses.

RESUMEN

Introducción: Los adenovirus integran una amplia familia de virus, varios de ellos pueden causar diversos síndromes respiratorios con severidad variable, tanto en niños como en adultos.

Objetivo: En este trabajo se determinó la presencia de adenovirus en pacientes con diferentes enfermedades respiratorias agudas, cuya característica principal es la inflamación.

Material y métodos: Se estudiaron 145 pacientes en tres grupos: 1) de 0 a 18 años, 2) de 19 a 50

años y 3) mayores de 50 años. Se tomó registro de los pacientes, si tenían o no antecedentes de enfermedad respiratoria crónica y los resultados fueron: crisis de asma 53, bronquitis crónica agudizada 54, sin antecedentes previos, pero con inflamación de vías aéreas superiores sugerentes de IRA 38. La presencia viral se detectó por aislamiento en cultivo celular y la identidad del antígeno viral se confirmó por inmunofluorescencia indirecta, se valoró la presencia de anticuerpos séricos por la prueba de fijación de complemento.

Resultados: En el primer grupo (n=22) se aisló e identificó adenovirus en el 13.63%; en el segundo grupo (n=52) el 13.46% y en el tercer grupo (n=71) el 9.4%. Respecto a los anticuerpos, en el 47.6% de los sueros se encontraron títulos de anticuerpos específicos.

Conclusiones: Los resultados del presente estudio sugieren que los adenovirus participan en diversos cuadros respiratorios y que pueden tener un papel importante en la inflamación del aparato respiratorio.

* Departamento de Investigación en Virología, INER.

‡ Servicio Clínico de Pediatría, INER.

§ Dirección de Enseñanza, INER.

Correspondencia:

Dra. María Eugenia Manjarrez, Jefa del Departamento de Investigación en Virología. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Calzada de Tlalpan 4502, colonia Sección XVI. México, D. F., 14080.

Tel. 5666 45 39, ext. 123, fax (525) 665 47 48

E-mail: memz@diego.iner.gob.mx

Trabajo recibido: 13-VI-2002; Aceptado: 27-VI-2002.

ABSTRACT

Introduction: Adenoviruses comprise a large family of viruses and some can cause different respiratory diseases of variable severity in children and adults. **Objectives:** To determine the presence of adenoviruses in patients with acute respiratory diseases.

Methods: 145 patients were divided in three groups: 1) from 0 to 18 years (n=22); 2) from 19 to 50 years (n=52); and 3) over 50 years (n=71). Some patients presented at registration clinical histories of respiratory diseases including asthma crisis (n=53) and exacerbation of chronic bronchitis (n=54); and some with no previous history presented inflammation of upper airways (n=38). The presence of viruses was detected by isolation in cell cultures, viral antigen identity was confirmed by indirect immunofluorescence and antibodies were evaluated by complement fixation assay.

Results: In the first group (n=22), adenoviruses were isolated and identified in 13.63%; 13.46% in the second group (n=52); and 9.4% in the third group (n=71). In the case of antibodies, 47.6% of the serum samples presented specific antibodies.

Conclusions: This study suggests that adenoviruses are present in various respiratory diseases, and that they can play an important role in respiratory inflammatory diseases.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas (IRA), representan uno de los grupos de enfermedades de mayor frecuencia, con altos índices de morbilidad. La inflamación de las regiones infectadas es una característica de las IRA al igual que de otras enfermedades de las vías respiratorias. Los agentes etiológicos principales son los virus y entre ellos se encuentran los adenovirus, quienes integran una amplia familia de virus en la que se incluyen dos géneros: los aviadenovirus que infectan aves y, los mastadenovirus virus que infectan mamíferos. Todos los adenovirus de mamíferos comparten un antígeno común que es detectado por diferentes técnicas como la fijación de complemento, inhibición de la hemaglutinación e inmunofluorescencia. De los adenovirus que infectan al hombre se han identificado más de 40 tipos antigénicamente distintos, y con base en sus propiedades físicas, biológicas y químicas se han clasificado en seis grupos (A-F). A algunos de ellos se les ha reconocido una importante relación con IRA como los tipos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 11, 14, 21, 34, 35¹⁻⁴. Estos virus causan una gran variedad de padecimientos como bronquitis y bronquiolitis²⁻⁵, neumonías^{1,6-8}, faringitis⁸, otitis media^{9,10}, entre otros y pueden infectar tanto a niños como adultos^{3,5-14}.

Otros adenovirus son agentes causales importantes de enfermedades gastrointestinales como los tipos 40 y 41. Es posible que un solo serotipo de adenovirus ocasione diferentes síndromes clínicos. De igual manera, un solo síndrome puede ser causado por diferentes serotipos de adenovirus, en ambos casos la severidad de la enfermedad puede variar de leve a grave. En algunas ocasiones una infección se limita a las partes altas, mientras que en otras se extiende a regiones inferiores del tracto respiratorio, lo

que puede hacer necesaria la hospitalización del paciente. Así también, se sabe que estos virus tienden a establecer infecciones latentes^{15,16} y se ha documentado su participación en cuadros respiratorios agudos en pacientes con enfermedad respiratoria crónica¹²⁻¹⁷; sin embargo, no es fácil saber su frecuencia ya que no siempre se sospecha de ellos, muchas veces no se realizan las pruebas de laboratorio para detectar su presencia y, es común que el médico sospeche de otros agentes como bacterias u otras causas. A pesar de la importancia de las IRA, en nuestro país, se tienen pocos estudios acerca de estos agentes¹⁸.

Objetivo

Determinar la presencia de adenovirus en pacientes que ingresan al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) con inflamación de vías respiratorias aguda por IRA y, evaluar los títulos de anticuerpos contra adenovirus en los mismos pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de pacientes

Fueron incluidos 145 pacientes con inflamación de vías respiratorias por probable IRA que ingresan en forma secuencial al INER. Se formaron tres grupos de acuerdo con la edad: 1) 0 a 18 años, 2) 19 a 50 años, y 3) mayores de 50 años. Los antecedentes de los pacientes fueron los siguientes: bronquitis (n=54), crisis de asma (n=53) y, sin enfermedad previa pero que también presentaban inflamación de vías respiratorias (n=38). Como control negativo se incluyeron 200 muestras de individuos sanos, a quienes se les invitó a participar, se les realizó una revisión clínica y se les aplicó un cuestionario. Algunas muestras de suero del grupo control se obtuvo de personas que asistieron al banco de sangre del INER, a las cuales también se les invitó a participar y se les aplicó el cuestionario. La muestra se obtuvo de la sangre que se utiliza para comprobar que no tengan hepatitis y VIH.

Toma de muestra

Para el aislamiento viral a todos los pacientes se les tomó exudado faríngeo o lavado nasofaríngeo. Inmediatamente las muestras se depositaron en 3mL de medio L-15 Leibovitz (*in vitro*) con 0.5% de albúmina sérica bovina (sigma) o suero fetal de ternera (sigma) y 1% antibiótico-antimicótico (penicilina, estreptomycin y anfotericina B) (sigma) para transportarlas al laboratorio, donde inmediatamente se trabajaron o se almacenaron a 4°C para trabajarlos al día siguiente. A los pacientes también se les tomó de 3 a 5mL de sangre venosa para la determinación de anticuerpos séricos. El suero obtenido se almacenó a 4°C hasta su procesamiento.

Aislamiento viral

Se cultivaron células Vero y HEp-2 en cámaras de 8 pozos (Nunc) con medio esencial mínimo (MEM) (sigma) con 10% de suero fetal de bovino y 1% de antibióticos. Las células se incubaron hasta que alcanzaron confluencia y, antes de utilizarlas se lavaron con buffer de fosfatos salinos (PBS).

Las muestras de exudado y lavado nasofaríngeo se centrifugaron a 800rpm⁹ durante 10min y el sobrenadante se utilizó para inocular a las células. Cada muestra se inoculó por triplicado en cada línea celular. El inóculo se incubó a 37°C con 5% de CO₂, durante 30min, después se retiró, se lavaron las células con PBS y se adicionó MEM con antibióticos. Los cultivos se revisaron diariamente durante ocho días para buscar microscópicamente efecto citopático (ECP). En caso de no observar dicho efecto, durante ese tiempo, se dieron dos pases más en células nuevas (de cuatro días cada uno), después de los cuales si no se observó el ECP, se dio por negativo. Las células se lavaron y fijaron con una mezcla 1:20v/v de éter-metanol o formol al 4%, y se realizó la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI).

IFI

Para comprobar que se trataba de una infección por adenovirus, se corrió la prueba de IFI sobre las células infectadas y fijadas, tanto con ECP como sin él. La prueba de realizó de acuerdo con las especificaciones de la casa comercial (Diagnostics, Pasteur), utilizando anticuerpos monoclonales que reconocen al antígeno común en los mastadenovirus (serotipos 1-47). Las preparaciones se cubrieron con líquido de montaje y se observaron al microscopio de epifluorescencia.

Pruebas de serología

Las pruebas de serología se realizaron con el único fin de observar la presencia de anticuerpos y no para determinar su incremento. Los anticuerpos se determinaron por la microtécnica de fijación de complemento (FC)¹⁹ con pequeñas modificaciones, para lo cual se utilizó el antígeno soluble de adenovirus (Whittaker), del tipo 6.

RESULTADOS

Del total de muestras tomadas por probable IRA, en todas ellas se confirmó la infección. De acuerdo a la edad se formaron tres grupos (Tabla Ia y Ib). De un total de 145 pacientes que participaron en el estudio, en 17 muestras se identificó al antígeno viral por IFI, y sólo en 16 se pudo observar claramente el ECP; en la Tabla II se muestran los casos positivos de acuerdo con el grupo de edad, antecedentes y porcentaje de positivos en cada grupo. En el grupo 1 se encontraron tres casos positivos, dos de los cuales tenían antecedentes de bronquitis, el tercero a pesar de no tener antecedentes se le diagnosticó neumonía, quien además de adenovirus también tuvo una coinfección con el virus sincitial respiratorio (VSR). A otro paciente de este grupo se le diagnosticó neumonía, pero se identificó al VSR (Tabla III).

En el grupo 2, se presentaron 7 casos positivos, 2 de ellos con exacerbación de bronquitis crónica, 2 con asma y 3 sin antecedentes. De estos últimos, 2 desarrollaron neumonía y 1 bronquitis aguda. Uno de los pacientes con neumonía, además de adenovirus presentó una coinfección tanto con bacterias como con el virus de influenza B (Tabla III).

En el grupo 3, también se aisló adenovirus en 7 casos: tres pacientes con antecedentes de bronquitis crónica, 3 con asma y 1 con bronquitis aguda y severa, pero no neumonía. También se presentó un paciente con diagnóstico de neumonía pero sin infección por adenovirus, sino por influenza A (Tabla III).

De los 145 sueros que se probaron para la búsqueda de anticuerpos antiadenovirus, en 69 se detectó su presencia, generalmente todos los títulos fueron bajos, menores de 32. De los pacientes a los que se les aisló virus, ninguno tuvo un título de anticuerpos mayor a 16, mientras que en niños (del grupo 1) en los que no se aislaron adenovirus, en cinco se encontraron anticuerpos con títulos mayores a 32.

Tabla Ia. Características de pacientes con infección respiratoria aguda, edad media en años.

Grupo	No. Pacientes	Edad (años)	Promedio	Sexo			Antecedentes	
				F	M	A	BC	SA
1	22	0-18	6.79 ± 5.52	10	12	3	8	11
2	52	19-50	36.48 ± 8.98	38	14	28	12	12
3	71	>50	64.98 ± 9.78	50	21	22	34	15

F= Femenino BC= Bronquitis crónica M= Masculino SA= Sin antecedentes A= Asma

Tabla Ib. Características del grupo control.

Grupo	No. pacientes	Edad (años)	Edad promedio	Sexo	
				F	M
1	50	0-18	7 ± 5	15	35
2	110	19-50	38 ± 9.2	58	52
3	40	>50	60 ± 9.5	20	20

Tabla II. Aislamiento de adenovirus. Relación entre edad de los pacientes y la enfermedad.

Enfermedad	Adenovirus encontrados por grupo de edad (años)			Total
	Grupo 1 n=22	Grupo 2 n=52	Grupo 3 n=71	
BC	2	2	3	7
Asma	0	2	3	5
SA	1*	3(*2)	1	5
Total	3	7	7	17
%	13.63	13.46	9.85	11.72

BC= Bronquitis crónica

SA= Sin antecedentes

* Pacientes con neumonía

Tabla III. Casos de neumonía.

Grupo de edad	Número de casos	Agente viral	Coinfección
1	1	Adenovirus	VSR
	1	VSR	
2	1	Adenovirus	IB
	1	Adenovirus	
3	1	IA	
Total	5		

VSR: Virus sincicial respiratorio

IA: Influenza A

IB: Influenza B

En el grupo control, en tres de las muestras del grupo 2 se identificaron antígenos virales.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

De las muestras de 145 pacientes incluidos en el estudio se aisló e identificó adenovirus en 17 (11.7%) y 1.5% del grupo control.

En el grupo 1 a pesar de que el número de integrantes fue pequeño (n=22), la infección por adenovirus se encontró en el 13.63%, este porcentaje es mayor al encontrado por otros autores como Blanding^{10,20-22}, quien trabajó con niños para probar una técnica y encontró que el 2.9% de los niños tenían una infección por adenovirus, mientras que Parrott⁸, halló que sólo el 7% de los niños que requerían hospitalización tenían una infección por adenovirus y los casos positivos en este grupo correspondieron a neumonías y bronquitis. En nuestro trabajo el porcentaje fue cercano al reportado por Nohynek²⁰ y a lo encontrado por Videla^{11,23} quien encuentra que el 14.3% de niños argentinos con IRA estuvieron infectados por

adenovirus y fue menor a lo reportado por Nelson²⁴ y a Huang²⁵, que reportan 22.6 y 60% respectivamente.

En el caso de los pacientes de este grupo que desarrollaron neumonía y se aisló adenovirus, en el niño de 1 año sin antecedentes de infección previa, pudo tratarse de una infección por adenovirus de vías respiratorias altas que, avanzó a vías inferiores, porque otros factores pudieron contribuir como la edad del paciente, la falta de anticuerpos que limitaran o redujeran la virulencia y la capacidad de los virus para alcanzar la región inferior del tracto respiratorio. Mientras que los otros dos casos (bronquitis) corresponden a niños de 3 y 12 años con antecedentes de enfermedad respiratoria previa, por lo que pudo tratarse de una reactivación de infección latente, o una reinfección, ya que ambos presentaron títulos de anticuerpos.

En cuanto a los grupos 2 y 3 que corresponden a pacientes adultos, se aisló e identificó adenovirus en el 13.46 y 9.85% respectivamente. En relación con los antecedentes, la bronquitis crónica y el asma fueron frecuentes en los dos grupos, sin embargo en el grupo 2, se presentaron dos casos de neumonía y en ambos casos se aisló adenovirus, lo cual se hubiera esperado en el grupo 3 y no en el 2, ya que los pacientes del grupo 3 son personas de mayor edad y son más susceptibles a las complicaciones graves.

No obstante, en estos dos grupos de adultos, en los que la mayoría de los pacientes ya tienen antecedentes de enfermedad respiratoria crónica, es difícil interpretar si se trata sólo de una IRA, o de una IRA que precipita una exacerbación de enfermedad previa, o bien, si la exacerbación pudo activar una infección latente de adenovirus, lo cual no ha sido reportado.

En los pacientes de los tres grupos que, desarrollaron neumonía (n=5), el porcentaje de aislamiento de adenovirus fue del 60%. Además, encontramos otros virus en coinfección, influenza B, en un paciente del grupo 2 y en el grupo 1 se identificó al VSR. La coinfección entre virus sugiere que la asociación, pudo operar como factor de riesgo para incrementar la posibilidad de cuadros graves y severos. De esta manera, los virus tienen el potencial para dirigir y contribuir con otros agentes como bacterias u otros virus para el desarrollo de neumonía. Estas aseveraciones son respaldadas por otros autores^{20,24,25} y tomando en cuenta que las epidemias por otros virus como influenza y VSR son frecuentes, se debe considerar la importancia de las asociaciones entre virus^{4,25}.

Tomando en cuenta el total de muestras positivas (n=17), el mayor porcentaje se encontró en pacientes con antecedentes (bronquitis y asma) (n=12, 70%), este hecho confirma lo expuesto por otros autores, quienes afirman que las infecciones por adenovirus pueden ser más severas cuando se presentan en personas que ya tienen un daño previo del aparato respiratorio^{20,22}. Otros autores²⁰, encontraron que un alto porcentaje de los adultos que requieren hospitalización por asma severa, presentan infección viral. Beasley¹⁷, menciona que las exacerbaciones de asma en adultos, en un 10% es debida a virus y que de ellos los más frecuentemente asociados son el VSR, parainfluenza 3,

rinovirus e influenza, en cambio no encontró adenovirus. A diferencia, nosotros encontramos adenovirus en un porcentaje significativo de pacientes adultos asmáticos, en el grupo 2 fue de 7.40% y en el grupo 3 de 13.4%.

No se observó una predominancia del aislamiento de virus en una época específica del año.

Por serología se detectaron anticuerpos en el 47.6% del total de sueros, por lo general los títulos fueron menores a 32.

Como era de esperarse, los pacientes a los que se les aisló virus no presentaron títulos elevados de anticuerpos, ya que la toma de sangre se realizó durante la fase aguda. En el grupo 1 se encontró que 2 de los 3 menores con infección viral, aunque bajos, presentaron títulos de anticuerpos. En el grupo 2, el 55.76% de los pacientes tuvieron títulos de anticuerpos, mientras que en el grupo 3, sólo el 42%. De tal manera que, aunque las pruebas serológicas no permitieron demostrar una infección activa de adenovirus, sí proporcionaron información a cerca de la circulación de estos agentes si los niños ya han estado en contacto con el virus y, también sugieren que es necesario un título mayor de anticuerpos para que proporcionen protección.

Por los resultados obtenidos podemos decir que, en nuestro medio, los adenovirus son agentes patógenos frecuentes en diversas manifestaciones agudas de daño en el aparato respiratorio; sin embargo, son necesarios estudios más completos para determinar qué tipo de adenovirus es más frecuente en cada una de las diferentes manifestaciones en nuestro país, ya que las técnicas utilizadas (tanto la IFI como la FC) sólo nos permiten la detección de antígenos comunes en los adenovirus.

REFERENCIAS

- Holladay RC, Cambell GD. *Nosocomial viral pneumonia in the intensive care unit*. Clin Chest Med 1995;16:121-133.
- Murtagh P, Cerqueiro C, Halac A, Avila M, Cajón A. *Adenovirus type 7h respiratory infections: a report of 29 cases of acute lower respiratory disease*. Acta Ped 1993;82:557-561.
- Edwards KM, Thompson J, Paolini J, Wright PF. *Adenovirus infections in young children*. Pediatrics 1985;76:420-424.
- Quiambao BP, Gatchalian SR, Halonen P, Lucero M, Sombrero L, Paladin FJ, et al. *Coinfection is common in measles-associated pneumonia*. Pediatr Infect Dis J 1998;17:89-93.
- Penn CC, Liu C. *Bronchiolitis following infection in adults and children*. Clin Chest Med 1993;14:645-654.
- Abbondanzo SL, English CK, Kagan E, McPerson RA. *Fatal adenovirus pneumonia in newborn identified by electron microscopy and in situ hybridization*. Arch Pathol Lab Med 1989;113:1349-1353.
- Sonoda S, Gotoh Y, Bann F, Nakayama T. *Acute lower respiratory infections in hospitalized children over a 6 years period in Tokio*. Pediatric Int 1999; 41:519-524.
- Parrott RH, Vargosko AJ, Kim HW, Chanock RM. *Clinical syndromes among children*. Am Rev Respir Dis 1963;88:73-88.
- Harsten G, Prellner K, Löfgren B, Kalm O. *Serum antibodies against respiratory tract viruses in episodes of acute otitis media*. J Laryngol Otolaryg 1991;105:337-340.
- Blanding JG, Hoshiko MG, Stutman HR. *Routine viral culture for pediatric respiratory specimens submitted for direct immunofluorescence testing*. J Clin Microbiol 1989;27:1438-1440.
- Videla C, Carballal G, Misirlian A, Aguilar M. *Acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus and adenovirus among hospitalized children from Argentina*. Clin Diagn Virol 1998;10:17-23.
- Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. *Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults*. Br Med J 1993; 307: 982-986.
- Crawford-Miksza LK, Nang RN, Schnurr DP. *Strain variation in adenovirus serotypes 4 and 7 causing acute respiratory disease*. J Clin Microbiol 1999; 37:1107-1112.
- Shult PA, Polyak F, Dick EC, Warshauer DM, King LA, Mandel AD. *Adenovirus 21 infection in an isolated antarctic station: transmission of the virus and susceptibility of the population*. Am J Epidemiol 1991;133:599-607.
- Flomenberg P, Piaskowski V, Truitt RL, Casper JT. *Characterization of human proliferative T cell responses to adenovirus*. J Infect Dis 1995; 171:1090-1096.
- Matsuse T, Hayashi S, Kuwano K, Keunecke H, Jefferies WA, Hogg JC. *Latent adenoviral infection in the pathogenesis of chronic airways obstruction*. Am Rev Respir Dis 1992;146:177-188.
- Beasley R, Coleman DE, Hermon Y, Holst PE, O'donnell TV, Tobias M. *Viral respiratory tract infection exacerbations of asthma in adult patients*. Thorax 1988; 43:679-683.
- Pizarro E, Reséndiz LJ, Quintero ME, Arreguín ML. *Investigación de anticuerpos hacia los adenovirus: III Estudio en dos comunidades cerradas*. Rev Lat-Am Microbiol Parasitol 1966; 8:9-12.
- Willing FM, Lewis AL. *Complement fixation test*. In: Specter S, Lancz GJ, editors. *Clinical virology manual*. New York: Elsevier, 1986:159-185.
- Nohynek H, Eskola J, Laine E, Halonen P, Ruutu P, Saikku P, et al. *The causes of hospital-treated acute lower respiratory tract infection in children*. Am J Dis Child 1991; 145:618-622.
- Chan PW, Goh AY, Chua KB, Kharullah NS, Hooi PS. *Viral aetiology of lower respiratory tract infection in young malaysian children*. J Pediatric Child Health 1999;35:287-290.
- Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. *Respiratory viruses and exacerbation of asthma in adults*. B Med J 1993;307:982-983.
- Videla C, Carballal G, Kajon A. *Genomic analysis of adenovirus isolated from Argentinian children with acute lower respiratory infections*. J Clin Virol 1999; 14:67-71.
- Nelson JK, Shieds MD, Stewart MC, Coyle PV. *Investigation of seroprevalence of respiratory virus infections in an infant population with a multiantigen fluorescence immunoassay using heel-prick blood samples collected on filter paper*. Pediatr Res 1999; 45:799-802.
- Huang JJ, Huang TY, Huang MY, Chen BH, Lin KH, Jeng JE, et al. *Simultaneous multiple viral infections in childhood acute lower respiratory tract infections in Southern Taiwan*. J Trop Pediatric 1998; 44:308-311.
- Gatchalian SR, Quiambao BP, Morelos AM, Abraham L, Gepanayao CP, Sombrero LT, et al. *Bacterial and viral etiology of serious infections in very young Filipino infants*. Pediatric Infect Dis 1999; 18:50S-55S.