



Tesis Doctoral

Doctorat en Medicina i Cirurgia

Departament de Pediatria, Obstetrícia i Ginecologia i Medicina Preventiva

Facultat de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

**RELACIÓN ENTRE LAS INFECCIONES
RESPIRATORIAS VÍRICAS DE VÍAS BAJAS DURANTE
EL PRIMER AÑO DE VIDA Y LA POSTERIOR
APARICIÓN DE ASMA EN LOS NIÑOS**

CARME PUIG SOLA

Barcelona, 2009



Tesis Doctoral

Doctorat en Medicina i Cirurgia

Departament de Pediatria, Obstetrícia i Ginecologia i Medicina Preventiva

Facultat de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

**RELACIÓN ENTRE LAS INFECCIONES
RESPIRATORIAS VÍRICAS DE VÍAS BAJAS DURANTE
EL PRIMER AÑO DE VIDA Y LA POSTERIOR
APARICIÓN DE ASMA EN LOS NIÑOS**

Memoria presentada por Carme Puig Sola para optar al grado de Doctor por la Universitat Autònoma de Barcelona. Trabajo realizado bajo la codirección del Prof. Oriol Vall Combelles y el Dr. Óscar García-Algar, de la Unitat de Recerca Infància i Entorn del Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona (IMIM), y del Prof. Jordi Sunyer Deu, del Centro de Investigación Epidemiológica y Ambiental (CREAL) del Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona (IMIM), Programa de Doctorat de la Universitat Autònoma de Barcelona, bienio 2007-2009.

Firma del Director de Tesis

(Prof. Oriol Vall Combelles)

Firma del Director de Tesis

(Dr. Óscar García-Algar)

Firma del Director de Tesis

(Prof. Jordi Sunyer Deu)

Firma del Doctorando

(Carme Puig Sola)

Agradecimientos

Mi profunda gratitud a mis directores de Tesis: Oriol Vall Combelles por haber creído en mí desde el principio; Oscar Garcia Algar por orientarme permanentemente durante estos años; y Jordi Sunyer Deu por escucharme, debatir y volverme a escuchar.

Quisiera recordar a todas las madres y padres que participaron en la cohorte de AMICS de Barcelona. Y sobre todo, a los niños y niñas, que hicieron posible conseguir esta extensa información.

También desearía destacar la colaboración de médicos, enfermeras y auxiliares de enfermería de los diferentes servicios y unidades (neonatología, pediatría, obstetricia, laboratorio clínico, ...) del Hospital del Mar, que participaron activamente en las diferentes etapas del estudio, y que se siempre se interesaron sobre los resultados que iban apareciendo.

Me gustaría reconocer, además, las contribuciones de los profesionales de las cohortes del estudio AMICS (Ashford, Menorca, Munich, ...) y que entre todos hicieron posible el protocolo del proyecto.

La cohorte de AMICS, en Barcelona, recibió los siguientes recursos: FIS 95/0314; FIS 96/0799; FIS 00/0021; FIS 03/0296; Convenio con el Istituto Superiore di Sanità; CIRIT-1999SGR 00241; COLT Foundation.

Abreviaturas

AMICS: *Asthma multicenter infant cohort study*

Der p1: *Dermatophagoides pteronyssinus* 1

EBS: *Easy Breathing Survey*

Fel d1: *Felis domesticus* 1

FEM: Flujo espiratorio máximo

HRB: Hiperreactividad bronquial

IFN- γ : Interferon gamma

IgE: Inmunoglobulina tipo E

IL-4: Interleuquina 4

IPA: Índice de predicción de asma

IRVA: Infecciones respiratorias de vías altas

IRVB: Infecciones respiratorias de vías bajas

ISAAC: *International study of asthma and allergy in children*

LTB: Laringotraqueobronquitis

NO2: Dióxido de nitrógeno

PCR: *Polymerase chain reaction*

Th1: Linfocito T *helper* tipo 1

Th2: Linfocito T *helper* tipo 2

VRS: Virus respiratorio sincitial

Índice

1. Introducción	pág. 8
2. Hipótesis	pág. 26
3. Objetivos	pág. 28
4. Metodología	pág. 30
5. Resultados	pág. 41
6. Discusión	pág. 48
7. Conclusiones	pág. 59
8. Resumen	pág. 61
9. Apéndice	pág. 64
10. Anexos	pág. 91

Publicación nº 1: Puig C, Sunyer J, Garcia-Algar O, Muñoz L, Pacifici R, Pichini S, Vall O. Incidence and risk factors of lower respiratory tract illnesses during infancy in a Mediterranean birth cohort. Acta Paediatr. 2008 Oct;97(10):1406-11. PMID: 18631341.

Publicación nº 2: Sunyer J, Puig C, Torrent M, Garcia-Algar O, Calicó I, Muñoz-Ortiz L, Barnes M, Cullinan P; Asthma Multicentre Infants Cohort Study. Nitrogen dioxide is not associated with respiratory infection during the first year of life. Int J Epidemiol. 2004 Feb;33(1):116-20. PMID: 15075156.

Publicación nº 3: García-Algar O, Puig C, Calicó I, Cortés A, Vall O. Prevalencia de *Chlamydia pneumoniae* en infecciones respiratorias de vías bajas en niños menores de 2 años. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2001 Nov;19(9):451-2. PMID: 11709128.

11. Bibliografía	pág. 112
-------------------------	----------

1. Introducción

El asma es la enfermedad crónica más frecuente en los niños. Según señalan diferentes estudios epidemiológicos la prevalencia está aumentando en los últimos años.¹ Sin embargo, se desconocen aún las razones de este incremento de forma concluyente. Además, la importancia del asma pediátrica radica también en la morbilidad asociada, en la carga sanitaria, social y familiar que conlleva y en la posible repercusión en la edad adulta.

El estudio del asma comporta una complejidad que desde la visión epidemiológica radica en diferentes aspectos. El primero es la propia definición clínica del asma, que no es fácil porque puede manifestarse a cualquier edad, con un rango de fenotipos variado, con crisis más o menos graves y con remisiones y recaídas. El siguiente punto se refiere a sus posibles causas. La etiología es multifactorial. Distintos genes parecen estar implicados en aspectos de la respuesta de los sistemas respiratorio e inmunológico. Y esta susceptibilidad genética se puede ver afectada por multitud de factores ambientales y hábitos. El último aspecto se refiere a la metodología del estudio. Se prefieren estudios de cohortes o longitudinales a estudios de prevalencia o de corte transversal. El motivo radica en que la aproximación longitudinal es especialmente recomendada en el estudio de la historia natural del proceso en aquellos casos en que la relación entre los factores de riesgo y el efecto puede variar a lo largo del período de tiempo del estudio.

Definición de asma

Diferentes autores han definido al asma como un cuadro heterogéneo con diferentes fenotipos o expresiones clínicas que dependen de la edad, el sexo, los antecedentes genéticos y factores ambientales. Esta enfermedad de evolución crónica se manifiesta por la aparición de crisis repetidas y reversibles de dificultad respiratoria con sibilancias.

Otra definición, más operativa y utilizada por los pediatras, es la del III Consenso Internacional Pediátrico², que define asma como la existencia de "sibilancias recurrentes y/o tos persistente en una situación en la que el asma es probable y se han descartado otras enfermedades menos frecuentes". Esta definición es más adecuada para el niño lactante y preescolar, en los que en muy pocas ocasiones se puede aplicar una definición más restrictiva de asma, como la siguiente: "clínicamente el asma es una enfermedad que se caracteriza por episodios de sibilancias, disnea, tos y opresión torácica;

fisiológicamente por procesos de obstrucción (generalmente reversible) de las vías aéreas e hiperreactividad bronquial; histológicamente por inflamación crónica de la vía aérea, en la que desempeñan un papel destacado determinadas células y mediadores; e inmunológicamente se caracteriza porque en un número importante de casos existe una producción de inmunoglobulinas tipo E (IgE) frente a algunos alérgenos ambientales”.

Así pues, como ha propuesto Jablonski³, el asma, en especial en la edad pediátrica, es probablemente un síndrome en el sentido clásico del término. Es decir, es un trastorno caracterizado por síntomas y signos similares, pero de etiología no bien especificada. Por ello, es muy difícil enunciar una definición exacta de esta enfermedad.

En esta línea, la revisión bibliográfica muestra que la fisiopatología del asma en la primera infancia (período comprendido entre los 0 y los 6 años) está lejos de ser comprendida exhaustivamente. Además, los estudios epidemiológicos introducen el término de sibilancias y parecen definir diferentes fenotipos clínicos de esta enfermedad. Estos fenotipos se basan en la presencia de sibilancias en diferentes momentos de la infancia y han sido bien diferenciados en diversas cohortes de varios países⁴ como sibilancias precoces transitorias, sibilancias persistentes no atópicas y sibilancias atópicas.

Definición de sibilancias

Las sibilancias son una de las principales manifestaciones clínicas del asma y son muy frecuentes en los niños menores de 3 años de edad. Sin embargo, se trata de un signo inespecífico. Es decir, pueden aparecer en la exploración física en una gran cantidad de procesos patológicos de distinta etiología, por ejemplo, infecciones bronquiales, malformaciones congénitas del árbol bronquial, fibrosis quística, aspiración de cuerpo extraño o discinesia ciliar primaria. Antes de atribuir su causa al asma, hay que descartar el resto de patologías.

Las sibilancias fisiopatológicamente manifiestan una dificultad del paso del flujo aéreo a través de unas vías respiratorias estrechas. El flujo turbulento causado por la variación del calibre de la luz bronquial es seguramente la causa más probable de este tono agudo y con carácter silbante. Parece ser que el flujo aéreo en las vías respiratorias pequeñas y periféricas es bajo y por lo tanto no tiene suficiente energía para generar una oscilación en un rango audible. Por ello, el sonido sibilante que se oye en los niños con obstrucción

de las vías respiratorias es una expresión del estrechamiento de las vías respiratorias mayores y centrales^{5,6}.

Historia natural de los trastornos con sibilancias en la infancia: fenotipos

Debido a la escasez de estudios longitudinales y a la falta de conocimiento sobre la historia natural de las sibilancias, no se ha establecido todavía de forma consensuada una edad que permita diferenciar estos fenotipos. Por lo que podemos encontrar en la literatura autores que han realizado su punto de corte a diferentes edades: a los 2 años⁷, a los 3 años y a los 3 ½ años⁸ de edad.

Se habla de fenotipos del asma porque el cuadro clínico surge de la interacción entre los diferentes factores ambientales implicados con el trasfondo genético del individuo, y cada individuo tiene una respuesta única. Esta heterogeneidad clínica, sin embargo, ha podido ser agrupada por diferentes investigadores o grupos de expertos en unas pocas categorías fenotípicas. Según las primeras definiciones de los fenotipos de Martínez⁴, el asma no se clasifica en función exclusivamente de la edad, sino de acuerdo con el cuadro clínico de presentación en el curso de la infancia. En la Tabla 1 se recogen los métodos de clasificación de los fenotipos del asma en los niños^{9, 10, 11, 12, 13, 14}.

Tabla 1. Métodos de clasificación de los fenotipos del asma en los niños

Métodos basados en elementos clínicos

Basado en síntomas

Edad de inicio

Historia natural

Gravedad

Basado en desencadenantes

Alérgico frente a no alérgico

Inducido por ejercicio

Sibilancias desencadenadas por virus frente a multicausales

Basado en la respuesta al tratamiento

Respuesta a los corticoides

Métodos basados en elementos fisiopatológicos

Pruebas de patología: biopsia, esputo inducido y lavado broncoalveolar

Eosinofílico

Neutrofílico

Marcadores no invasivos de inflamación de la vía aérea

Óxido nítrico exhalado

Condensado del aliento exhalado

Pruebas de función pulmonar

Obstrucción de la vía aérea persistente frente a reversible con broncodilatador

Reactividad bronquial a ejercicio, aire frío, provocación química

Así pues, tenemos diferentes fenotipos de asma según la edad en que se diagnostique o se presente la clínica: adultos, adolescentes, edad preescolar y también "asma del lactante". El III Consenso Pediátrico Internacional definió en 1998 el "asma del lactante" como aquella situación en la que se producen 3 o más episodios de sibilancias y/o tos en un marco clínico en el que el diagnóstico de asma es el más probable, tras haber descartado otros procesos menos frecuentes².

Recientemente, ha surgido en la guía PRACTALL otra clasificación del asma según el fenotipo clínico y basada en la identificación de determinados factores ambientales relacionados con el desarrollo o el desencadenamiento del asma: asma inducida por virus, asma inducida por el ejercicio, asma inducida por alérgenos y asma no resuelta¹⁵. Es una clasificación útil para tener una orientación diagnóstica y terapéutica pero debe tenerse en cuenta que el solapamiento entre estos fenotipos puede ser frecuente, además de las posibles interacciones que puedan existir entre los factores desencadenantes como ha quedado demostrado en el estudio realizado por Murray¹⁶ donde muestra que la sensibilización alérgica constituye un factor de riesgo muy significativo que incrementa la probabilidad de ser hospitalizado en el curso de una infección respiratoria vírica. Además, la expresión fenotípica también está determinada por la influencia de la interacción del genotipo con el ambiente. En esta línea, numerosos estudios demuestran que polimorfismos genéticos de nucleótido simple condicionan de forma determinante tanto la respuesta a los tratamientos¹⁷ así como la sensibilización alérgica¹⁸.

Por último, la mayoría de los estudios epidemiológicos longitudinales distinguen tres fenotipos epidemiológicos. A principios de la década de 1990 se publicaron los primeros datos de la cohorte de Tucson⁴, uno de los estudios más importantes en el conocimiento del asma infantil, que ha permitido conocer el desarrollo del asma, la relación con determinados factores de riesgo y ha definido los fenotipos evolutivos por primera vez.

Los datos de la cohorte de Tucson sugerían la clasificación de los niños en 4 grupos según los antecedentes de presentar o haber presentado alguna vez sibilancias en los primeros 6 años de vida:

- Niños sin sibilantes: nunca han presentado sibilancias en la infancia.
- Niños con sibilantes transitorios: han sufrido al menos una infección respiratoria de vías bajas (IRVB) con sibilancias en los 3 primeros años de vida, pero a los 6 años de edad ya no presentan sibilancias.
- Niños con sibilantes de inicio tardío: no han tenido IRVB con sibilancias en los primeros años de vida, pero sí las presentan a los 6 años de edad.
- Niños con sibilantes persistentes: desde los primeros años de vida han presentado sibilancias.

Globalmente, el 33,6 % de los niños estudiados en la cohorte de Tucson han padecido sibilancias alguna vez antes de los 3 años de edad. La presentación de alguna de las 4 formas clínicas de los trastornos con sibilancias en la infancia se distribuye de la siguiente manera: (1) el 51,5 % de los niños hasta los 6 años nunca han presentado sibilancias, (2) el 19,9 % han tenido al menos una IRVB con sibilantes en los primeros 3 años pero no a los 6 años de edad (forma precoz transitoria), (3) el 15 % no han tenido ningún episodio antes de los 3 años y sí a los 6 años de edad (forma de inicio tardío), y (4) el 13,7 % han tenido episodios persistentes desde antes de los 3 años de edad. Muchos de estos niños han presentado sus episodios de sibilancias asociados a una infección respiratoria vírica, en general debidos a virus respiratorio sincitial (VRS) o a virus parainfluenza.

En las últimas publicaciones de estos mismos autores^{19, 20} se ha precisado más la distinción de estos fenotipos con la incorporación de información sobre la presencia o no de atopía, redefiniendo los 3 fenotipos de presentación del asma en la infancia de la siguiente forma (Tabla 2):

- Niños con sibilancias precoces transitorias: en el primer año de edad presentan episodios de sibilancias recurrentes que se normalizan antes de los 3 o 5 años, con independencia de las intervenciones terapéuticas realizadas. Por lo general, no tienen antecedentes familiares de asma ni sensibilización alérgica. No presentan mayor prevalencia de hiperreactividad bronquial (HRB). Estos niños tienen asociadas otras variables de riesgo como prematuridad, función pulmonar alterada sin ninguna IRVB causal, sexo masculino, contacto con hermanos y con otros niños en la guardería, tabaquismo durante el embarazo y exposición postnatal al humo de tabaco.
- Niños con sibilancias no atópicas: se inician antes del año de edad y los episodios se prolongan más allá de los 3 o 5 años. El comienzo de la clínica se relaciona con infecciones víricas. La función pulmonar es normal en el nacimiento y se deteriora posteriormente. Existe hiperrespuesta a la metacolina y se asume que podría existir una respuesta exagerada del sistema inmunitario, junto con alteraciones histológicas o funcionales de las vías aéreas.
- Niños con sibilancias persistentes atópicas: se manifiestan a partir del primer año de edad y hay antecedentes personales de atopia y/o antecedentes familiares de asma y/o alergias. La función pulmonar es normal en el momento del nacimiento pero, en general, se deteriora de forma significativa antes de los 6 años de edad. Se ha descrito la existencia de HRB en este grupo y se considera que la sensibilización alérgica precoz incrementa el riesgo de morbilidad obstructiva e inflamación de la vía aérea con un mayor riesgo de deterioro de la función pulmonar.

Tabla 2. Fenotipos epidemiológicos de lactantes con sibilancias recurrentes según datos de la cohorte de Tucson, y características que los definen

Fenotipo de sibilancias (%)	Edad	
	< 3 años	6 años
Sibilancias precoces transitorias (60 %)		
Sibilancias	+	-
Función pulmonar anormal	+	+
HRB / variabilidad FEM	¿?	¿?
Sibilancias persistentes no atópicas (20 %)		
Sibilancias	+	+
Función pulmonar anormal	-	+

HRB / variabilidad FEM	+	¿?
Sibilancias persistentes atópicas (20 %)		
Sibilancias	-	+
Función pulmonar anormal	-	+
HRB / variabilidad FEM	-	+

HRB: hiperreactividad bronquial; FEM flujo espiratorio máximo

Recientemente, Spycher²¹ ha descrito otros fenotipos de lactantes con sibilancias (niños con sibilancias atópicas persistentes, niños con sibilancias persistentes no atópicas y niños con sibilancias virales transitorias) y dos fenotipos en relación con la tos (tos persistente y tos transitoria). La diferencia con la cohorte de Tucson está en el fenotipo de sibilancias precoces transitorias. Según Spycher, en su estudio halló que las sibilancias transitorias se asocian a infecciones víricas y no hay una función pulmonar anormal en el momento del nacimiento. Resultados similares obtuvo Lau²² que no encuentra tampoco alteración de la función pulmonar en los niños con sibilancias transitorias.

Diagnóstico de asma

Diagnosticar asma en el lactante y en la primera infancia (antes de los 6 años de edad) no es fácil dado que no existen aún biomarcadores predictores de asma. Además, muchas de las pruebas complementarias que se realizan en este sentido para el estudio de la función pulmonar o del patrón inflamatorio, son complejas de realizar y no están validadas a estas edades, por lo que el diagnóstico es clínico de forma prácticamente exclusiva^{14, 23}. Se ha introducido algún método con capacidad predictiva y que pueda ser utilizado por los médicos de atención primaria y por los especialistas. Entre ellos, destaca el uso del cuestionario Easy Breathing Survey (EBS) y el Índice de Predicción de Asma (IPA). El cuestionario EBS, constituido por 4 preguntas, tiene una sensibilidad del 94 % y una especificidad del 55 %. Mientras que el IPA, propuesto por Castro-Rodríguez²⁴, está basado en el diagnóstico médico de asma y/o dermatitis y con la presencia o ausencia de algunos de los factores de riesgo relacionados (sensibilización alérgica, tabaquismo familiar). Este índice tiene un valor predictivo positivo del 77 % y un valor predictivo negativo del 68 %. Posteriormente, el IPA ha sido modificado por otros autores^{25, 26}.

Etiología del asma

El asma es una enfermedad multifactorial que no se debe a una única causa sino al resultado de una interacción entre una predisposición genética y determinados factores ambientales que ayudan a incrementar la inflamación en las vías respiratorias.

Entre los factores genéticos relacionados hasta 120 genes distintos se relacionaron en 2006 con el desarrollo de asma o de alergia²⁷. Algunos de estos factores genéticos están relacionados con:

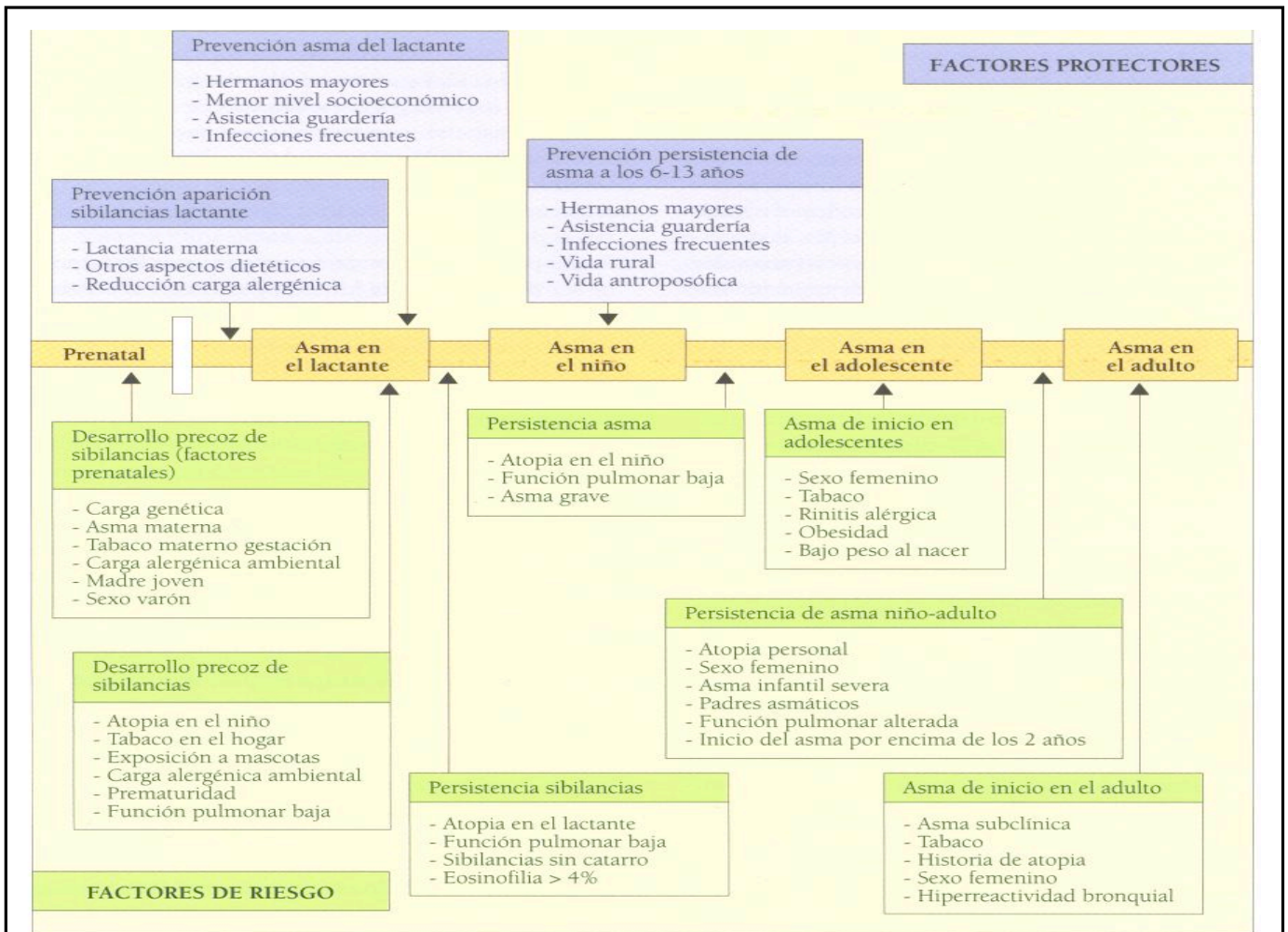
- La regulación de las citoquinas que controlan la síntesis de IgE y la inflamación eosinofílica,
- Los polimorfismos genéticos que regulan el tono muscular, y
- Los mecanismos de reparación.

Sin embargo, aunque está bien documentado²⁸ que la prevalencia del asma ha ido aumentando de forma continuada en los últimos 30 o 40 años, este incremento no puede explicarse por modificaciones sustanciales en la carga genética porque poblaciones similares genéticamente presentan prevalencias diferentes^{29, 30}. Por ello, la atención se ha dirigido hacia el efecto de determinados factores ambientales, especialmente las infecciones.

Además de las infecciones, otros múltiples factores ambientales han sido descritos en muchos estudios epidemiológicos. Un esquema que resume muy bien qué factores ambientales están relacionados y en qué momento de la historia natural del proceso parecen tener mayor efecto es el que realizó Diaz³¹ y que se detalla en la Figura 1.

Para estos factores de riesgo ambientales se ha postulado que pueden tener un efecto positivo o negativo en el desarrollo posterior del asma cuando ocurren en los primeros momentos de la vida. Sin embargo, el mismo factor puede tener un efecto contrario si sucede a otras edades, por ejemplo las infecciones respiratorias.

Figura 1. Factores de riesgo del asma



El esquema propone, para cada etapa evolutiva del asma, una serie de factores que han sido comunicados como favorecedores o protectores para el inicio y progresión de la enfermedad en las diferentes edades de la vida. No todos ellos están plenamente confirmados. Algunos están claramente en controversia y otros cuentan con estudios con resultados opuestos. En el texto se repasan los más relevantes y aceptados. El concepto atopia hace referencia tanto a la sensibilización a alérgenos como a la presencia de síntomas (eccema, rinoconjuntivitis alérgica).

Epidemiología

El asma afecta alrededor del 5 al 10 % de los niños y en la mitad de los casos se inicia antes de los 3 años de edad²³. En España, la prevalencia de asma a los 6 años oscila entre el 7 % y el 13 %, según los datos que aporta el estudio ISAAC-III de 2002³², siendo más frecuente en la costa y el norte del país. Además, es una enfermedad con una prevalencia ascendente durante los últimos 30 años. Las cifras hablamos de prevalencia de esta enfermedad son muy variables al comparar los distintos países, entre el 2 % y el

33 %. Los países anglosajones son los de mayor prevalencia y Europa del Este, China e Indonesia son los de menor prevalencia²⁸. Esta variabilidad también se puede hallar dentro de un mismo país. En gran parte, se explica por las distintas definiciones de asma utilizadas.

En cuanto a la prevalencia de las sibilancias se puede decir que aproximadamente el 30 % de los niños presentan algún episodio durante los 6 primeros años de vida. Según el estudio ISAAC-III³², en España el 32 % y el 26 % de los niños y las niñas, respectivamente, han presentado sibilancias en alguna ocasión durante este período. Pero no todos los niños que tienen sibilancias en su infancia tienen asma después, por lo que se ha aceptado en el ámbito clínico-epidemiológico la posibilidad de que existan diferentes fenotipos de sibilancias, alguno de ellos con una clara relación con el desarrollo de asma. Se estima que persisten en el 15 % a 30 % de los niños que presentan sibilancias después de los 5 años de edad.

En muchos pacientes con asma, y especialmente los niños, las infecciones respiratorias provocan sibilancias. En un principio, la atención se centró sobre las bacterias como agentes etiológicos, pero los estudios prospectivos han indicado de forma concluyente que son las infecciones víricas, y no las bacterianas, las que desencadenan asma. Diversos estudios prospectivos han aportado los siguientes datos epidemiológicos:

- Los niños con asma sufren una media de 2,5 episodios de infecciones respiratorias de vías bajas cada año y los otros niños sólo 1 episodio.
- Aproximadamente en el 70 % de los episodios de enfermedad respiratoria de vías bajas antes de los 3 años se puede demostrar la presencia de virus respiratorios³³.
- En la mitad de los casos, el virus que se aísla es el virus respiratorio sincitial³⁴.

Fisiopatología del asma

El asma se caracteriza por producir una limitación al flujo aéreo e hiperreactividad bronquial. Lo que subyace y explica estos fenómenos son el remodelado y la inflamación de la vía aérea²³.

En algunos de los casos, el paciente atópico, la inflamación se presenta como consecuencia de una respuesta alérgica mediada por anticuerpos IgE. Los alérgenos

desencadenan una respuesta linfocitaria de tipo T *helper* 2 (Th2), que conlleva el reclutamiento de eosinófilos, que es el tipo celular más característico. En otros casos, la inflamación ocurre también a través de una respuesta Th2, pero en esta ocasión desencadenada sin la intervención de un alérgeno conocido. En este escenario podrían estar las infecciones víricas (VRS o virus *influenza*) o a estímulos inespecíficos (ejercicio o irritantes ambientales). Si esta inflamación se mantiene debido a contactos repetidos con el alérgeno o a otros estímulos, se ha descrito que puede generarse una remodelación de la mucosa bronquial. Esta remodelación puede afectar a las grandes vías aéreas, donde puede observarse afectación del epitelio superficial, engrosamiento de la membrana basal, aumento del grosor de la capa de músculo liso, aumento de la producción de moco y aumento de la vascularización. También hay alteraciones en la vía de pequeño tamaño con inflamación eosinofílica, metaplasia mucoide y aumento de la musculatura lisa. Este remodelado conduce a una limitación persistente e irreversible al flujo aéreo y a hiperreactividad bronquial.

Para Cypcar³⁵ existe un mecanismo inflamatorio por el que dichas infecciones pueden potencialmente inducir obstrucción bronquial e hiperreactividad, dos signos clínicos importantes en el asma. Para ellos las infecciones respiratorias no tienen un efecto directo sobre la vía respiratoria. Se trata de una serie de elementos que de forma interrelacionada se combinan para el desarrollo del proceso inflamatorio de las vías respiratorias. Estos autores creen que un mejor conocimiento de este proceso inflamatorio es el que puede aportar novedades en el tratamiento, más que el dirigido a la etiología vírica. De forma resumida los elementos relacionados son:

- Producción de anticuerpos IgE: los estudios realizados sugieren que las infecciones víricas (VRS) son capaces de conseguir una respuesta inmunitaria de tipo I o de hipersensibilidad, mediada por IgE.
- Incremento de la respuesta inflamatoria celular de mastocitos y basófilos.
- Afectación de la respuesta celular de los linfocitos T: se ha hallado un descenso de los linfocitos T *helper* y T supresores, modificaciones en la expresión de las moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) y mayor actividad de los linfocitos T citotóxicos.
- Alteración de la función del sistema nervioso autónomo: algunos estudios señalan menor actividad de la regulación beta-adrenérgica de las vías respiratorias; otros destacan la presencia de estimulación colinérgica.

- Daño del epitelio respiratorio: por deficiencia de endopeptidasa y de la ciclooxigenasa, que tienen efecto broncodilatador.

En el caso de los niños menores de 3 años de edad que desarrollan sibilancias transitorias, la fisiopatología no tiene relación con un proceso inflamatorio ni con el remodelado bronquial antes detallado, sino explica por una labilidad de los bronquios a esa edad, además del pequeño tamaño de la vía aérea, que se obstruye con facilidad. Por este motivo, estos niños no suelen desarrollar asma en el futuro y los cuadros de sibilancias desaparecen antes de los 5 o 6 años de edad¹⁰.

Infecciones respiratorias de vías bajas

Las infecciones respiratorias son las más frecuentes durante la infancia. La mayoría de ellas afectan a las vías respiratorias superiores. Sin embargo, la incidencia de las infecciones de vías inferiores como bronquiolitis, neumonías o bronquitis también es importante. En los países desarrollados, se presentan en un 20 % a 39 %^{36, 37} de la población infantil. Además, la importancia de las infecciones respiratorias inferiores no sólo radica en su posible relación con el desarrollo de asma sino también en la carga económica y social que pueden ocasionar para los servicios sanitarios y para las familias, respectivamente³⁸. También se postula que pueden tener un efecto a largo plazo, ya que algunos estudios han hallado que los adultos que presentan enfermedad pulmonar obstructiva crónica tuvieron más procesos respiratorios de vías inferiores en la infancia³⁹.

Relación entre asma y las infecciones respiratorias en edad temprana

En muchos pacientes con asma y especialmente en los niños, las infecciones respiratorias provocan sibilancias. Los estudios prospectivos han indicado de forma concluyente que las infecciones víricas pueden desencadenar asma. Sin embargo, menos aclarada está la posibilidad de que las infecciones respiratorias sean el fenómeno central en la patogenia del asma. Así pues, persiste el debate sobre si las infecciones víricas de las vías respiratorias bajas en los primeros años de la vida son causa de hiperreactividad bronquial y por lo tanto de desarrollo de asma; o si en cambio son los factores genéticos, fisiológicos y ambientales los que determinan que una persona tenga predisposición al asma, y además también a las infecciones víricas.

A pesar de las opiniones opuestas sobre la relación causal de las infecciones respiratorias víricas y el desarrollo de asma, lo que está claro es que existe una asociación temporal:

- La mayoría de los niños menores de 1 año de edad que presentan cuadros de obstrucción respiratoria presentan infecciones víricas asociadas. Sin embargo, es un período donde aún no se puede determinar si este niño va a desarrollar o no asma, o si sólo se trata de un episodio transitorio de sibilancias.
- La edad preescolar es el momento en que la incidencia del asma es mayor y donde el papel de las infecciones respiratorias en la patogenia del asma tiene mayor importancia, dado en la mayoría de niños con una crisis asmática se han encontrado virus.

Los datos acumulados en la literatura plantean cuestiones acerca de si las infecciones respiratorias sólo influyen en el desarrollo del proceso asmático o en la aparición de sibilancias, si intervienen en su etiología o si son protectoras de los cuadros de asma y de alergia.

Las infecciones respiratorias como desencadenantes de crisis de asma

En el cuadro clínico de asma (independientemente de cuál fue su causa), la obstrucción de la vía aérea y la hiperreactividad bronquial subyacentes ya existen. La agresión por una infección respiratoria vírica da lugar a que el paciente susceptible con asma responda con un aumento de la reactividad de la vía aérea y una obstrucción aumentada.

La relación temporal entre las infecciones respiratorias víricas y los procesos respiratorios con sibilancias en niños mayores está bien establecida, a través de estudios microbiológicos y serológicos sobre los virus más frecuentes (VRS, virus *parainfluenza*, virus *influenza*, ...). Diferentes estudios con diversas metodologías de detección vírica indican que la incidencia de crisis asmáticas asociadas a infecciones virales está entre el 24 % y el 54 %³⁵. Recientemente, el desarrollo de las técnicas de diagnóstico basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha hecho que otros virus también se relacionen con episodios agudos de sibilancias en niños con asma, por ejemplo, metapneumovirus y rinovirus. Las infecciones víricas por sí solas son capaces de provocar síntomas de las vías respiratorias bajas y con mayor facilidad en aquellas personas con antecedentes de asma. Pero parece que también podrían facilitar un papel de sinergia

con otros factores desencadenantes de asma, como la amplificación del efecto de la exposición a alérgenos o a contaminantes ambientales.

También se ha intentado relacionar la sinusitis bacteriana con el desarrollo del asma, pero existen pocos estudios que aporten información definitiva. Los estudios que existen se han realizado en niños con asma y síntomas persistentes que no mejoran con el tratamiento habitual para el asma y carecen de grupo control con quien comparar los resultados de mejoría y los hallazgos microbiológicos. El mecanismo por el que se relacionan ambos procesos es que el propio cuadro infeccioso de las vías superiores puede alcanzar las vías respiratorias inferiores por aspiración. Y el otro mecanismo está relacionado con el reflejo faringobronquial de las vías respiratorias ocasionado por el goteo que acompaña a las sinusitis y que es capaz de generar una hiperreactividad de las vías respiratorias superiores y bronquiales. Otros autores señalan que son procesos relacionados porque las mucosas (sinusal o bronquial) comparten las mismas características inflamatorias.

Las infecciones respiratorias como causa de asma

Estudios recientes indican que los factores ambientales especialmente aquellos que tienen lugar en los primeros años de la vida podrían tener un papel muy importante en el desarrollo del sistema inmunitario. En este sentido, la exposición a diferentes microorganismos, alérgenos y estrés, además de determinadas infecciones, podrían ayudar al sistema inmunitario para que se produzcan con mayor probabilidad las alergias.

Entre las infecciones respiratorias relacionadas con el asma que han hallado diversos autores se encuentran principalmente la bronquiolitis por VRS y posiblemente infecciones crónicas por *Mycoplasma*, *Chlamydia* y adenovirus.

Las infecciones por VRS son las que más se han relacionado con el desarrollo de asma y los estudios realizados hasta ahora indican que este virus se aísla hasta en un 70 % de los episodios de sibilancias y bronquiolitis. Además, el proceso de la bronquiolitis mantiene un paralelismo con el asma: ha ido aumentando el número de casos en los últimos años y se trata de un proceso que se manifiesta con sibilancias y que tiene una fisiopatología bastante similar al asma^{40, 41}. Recientemente, Reijonen⁴² ha hallado que

otros virus también podrían estar asociados con la aparición de asma (*virus parainfluenza*, *virus influenza* y *metapneumovirus*).

Algunos autores han hallado esta potencial asociación entre algunos microorganismos relacionados con infecciones crónicas (*adenovirus*, *Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*) porque se ha hallado que los niños asmáticos tienen cifras más elevadas de anticuerpos IgA frente a estos microorganismos. Sin embargo, no ha sido posible obtener evidencia de que la infección aguda por ellos provoque una exacerbación del asma. Por este motivo se cree que la infección crónica posibilita o favorece la inflamación de las vías aéreas y aumenta así la susceptibilidad para otros estímulos como virus o alérgenos.

Las infecciones que pueden reducir el riesgo de desarrollo de asma (y alergias)

La primera referencia al respecto fueron los estudios realizados en la isla de Tristan de Cunha, población con una alta prevalencia de asma (46 %) y con baja prevalencia de anticuerpos frente a virus⁴³. Posteriormente, empezó a tomar importancia la hipótesis higienista desarrollada por Strachan⁴⁴ en 1989 y que proponía que las mejoras higiénicas en las sociedades desarrolladas podían ser sin embargo un factor de riesgo que explicaría este aumento del asma y la atopia. En los países desarrollados, algunas infecciones infantiles han disminuido en su frecuencia en los últimos 100 años, gracias al desarrollo sociosanitario y económico de las sociedades, además de la intervención directa frente a ellas, con el descubrimiento y el uso de antibióticos y vacunas.

La evidencia actual indica que el mecanismo biológico plausible es que los recién nacidos presentan al nacer una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos Th2, que está relacionada con la alergia porque estimula la producción de IgE y eosinofilia^{45, 46}.

Se sabe que la producción de IgE en la atopia está relacionada con la citoquina interleuquina-4 (IL-4) y el interferón gamma (IFN- γ): la IL-4 activa a los linfocitos B para que produzcan IgE y el IFN- γ inhibe este proceso. Dicho de otra forma: los individuos atópicos y no atópicos se distinguen por los perfiles de citoquinas de sus linfocitos T y por la producción de IgE por parte de sus linfocitos B: la respuesta celular T en los individuos atópicos tiende a la presencia de linfocitos con fenotipo Th2, caracterizado por la secreción de IL-4, mientras que en los individuos no atópicos

tiende a la presencia de linfocitos con fenotipo Th1, caracterizado por la secreción de IFN- γ .

Sin embargo, esta respuesta inmunitaria inicial con linfocitos tipo Th2 vira o madura hacia otra respuesta inmunitaria posterior con linfocitos Th1 durante los primeros años de vida debido a la influencia de factores ambientales, principalmente las infecciones que ocurren en este período. Por lo tanto, todos aquellos factores ambientales que favorecen el hecho de estar en contacto con virus, como tener más hermanos, acudir a la guardería o vivir en contacto con animales de granja, o padecer determinadas enfermedades infecciosas como sarampión, infecciones por micobacterias o hepatitis A, parece favorecer una maduración inmunológica que previene las enfermedades atópicas. Como factores en contra se hallan aquellas situaciones de familias poco extensas, las vacunas efectivas y un uso frecuente de antibióticos en los primeros años de la vida, que favorecen el desarrollo de asma y atopia.

Sin embargo, en cuanto a las infecciones respiratorias parece que no todas ellas son igual de protectoras. Una lectura detallada de la bibliografía disponible pone de manifiesto que es necesario diferenciar este efecto protector según se hable de infecciones respiratorias de vías superiores (IRVA) o de IRVB. En este sentido, Illi⁴⁷ sugiere, según los resultados de su estudio prospectivo, un efecto protector de las IRVA para el desarrollo posterior del asma (*odds ratio* (OR) 0,49 (Intervalo de confianza del 95 % (IC 95 %) 0,26-0,94)) y para las sibilancias (OR 0,52 (IC 95 % 0,27-0,98)). Sin embargo, este mismo autor encuentra que repetidas IRVB en los 3 primeros años de edad tienen una relación directa con el desarrollo asma (OR 4,46 (IC 95 % 2,07-9,64)) y de sibilancias (OR 3,97 (IC 95 % 2,06-7,64)). Otras cohortes infantiles también han hallado esta relación para las infecciones respiratorias de vías inferiores^{48, 49, 50, 51}.

Por ahora, el único virus que se había relacionado con una mayor probabilidad de causar asma era el VRS^{49,50}. Recientemente, algunos estudios han señalado el posible papel que podrían tener también las infecciones por rinovirus⁵².

Justificación

En la literatura existen pocos datos prospectivos procedentes del seguimiento de una cohorte poblacional desde el nacimiento, tal como plantea este proyecto, acerca de la relación entre las IRVB y el desarrollo de asma y sibilancias durante la infancia.

La identificación de los factores de riesgo de presentar asma en la infancia y su relación con los fenotipos clínicos descritos puede permitir un mejor tratamiento agudo de la clínica del cuadro y la utilización de medidas preventivas a largo plazo, tanto farmacológicas como ambientales.

La descripción de la historia natural de los cuadros con sibilancias en la infancia, incluyendo los distintos fenotipos, y los factores causados relacionados puede permitir disponer de una cohorte de niños que podrán ser seguidos hasta la edad adulta para valorar la relación del asma en la infancia y el asma y otras enfermedades respiratorias crónicas del adulto.

2. Hipótesis

El seguimiento prospectivo de una cohorte poblacional desde el nacimiento permite conocer la relación entre las IRVB y el desarrollo de asma y sibilancias durante la infancia:

1. Las infecciones respiratorias de vías inferiores que ocurren durante el primer año de vida son un factor de riesgo para la posterior aparición de asma en los niños.
2. Las infecciones respiratorias de vías bajas que ocurren durante el primer año de vida son un factor de riesgo para la posterior aparición de sibilancias en los niños.

El conocimiento de la historia natural de los trastornos con sibilancias en la infancia permite diferenciar entre los fenotipos episódico, transitorio y persistente.

3. Objetivos

Objetivos principales:

1. Evaluar el papel de las infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) que ocurren durante el primer año de vida como factor de riesgo del posterior desarrollo de asma en los niños.
2. Evaluar el papel de las infecciones respiratorias de vías bajas que ocurren durante el primer año de vida como factor de riesgo del posterior desarrollo de sibilancias en los niños.
3. Progresar en el conocimiento de la historia natural de los trastornos con sibilantes en la infancia, incluyendo los fenotipos episódico, transitorio y persistente.

Objetivos secundarios:

1. Determinar la prevalencia e incidencia de niños que desarrollan asma durante la infancia.
2. Determinar la prevalencia de niños que desarrollan sibilancias durante la infancia.
3. Determinar la relación de otras variables con las IRVB y el desarrollo del asma.
4. Determinar la relación de otras variables con las IRVB y el desarrollo de sibilancias.
5. Disponer de una cohorte de niños que podrán ser seguidos hasta la edad adulta para valorar la relación del asma en la infancia y el asma y otras enfermedades respiratorias crónicas del adulto.

4. Metodología

Diseño

El estudio tiene un diseño de cohorte poblacional de recién nacidos, con seguimiento prospectivo de los niños hasta los 6 años de edad.

Ámbito

Área de influencia del Hospital del Mar (distritos de Ciutat Vella y Sant Martí). Dicha zona limita con el puerto y el mar al este y con la ciudad al oeste. Es un área económica de un nivel socioeconómico medio-bajo.

Sujetos

Se han estudiado 487 recién nacidos incluidos en la cohorte del estudio Asthma Multicenter Cohort Study (AMICS). Sus madres fueron reclutadas para el estudio durante su visita al Hospital del Mar para seguimiento de su gestación, entre enero 1996 y octubre 1998. Se explicó a los padres las características del estudio y se les pidió su participación. Se incluyeron en el protocolo de estudio y seguimiento del proyecto aquellos que cumplían los criterios de inclusión (entender español, tener un teléfono de contacto y tener previsto seguir viviendo en Barcelona durante los años siguientes).

AMICS es un estudio multicéntrico (Ashford, Reino Unido; Barcelona y Menorca, España; Munich, Alemania) iniciado en 1993 en Ashford y continuado con la incorporación posterior de los posteriores centros. Cada centro aportaba una cohorte de recién nacidos para realizar un estudio longitudinal y prospectivo, con el objetivo de determinar la relación entre un amplio número de potenciales factores de riesgo (exposición pasiva al tabaco durante la gestación, niveles de alergenitos domésticos, tabaquismo pasivo, niveles domésticos de NO₂ e infecciones víricas durante los 3 primeros años de vida) y el desarrollo de asma a los 6 años de edad.

Variabes del estudio

Variabes dependientes

1. Asma

El diagnóstico de asma se estableció clínicamente a partir de la respuesta afirmativa a la pregunta "¿algún médico le ha dicho alguna vez que su hijo tenía asma?" en cualesquiera de los cuestionarios administrados durante el seguimiento.

Como variable dependiente de estudio se ha elegido la respuesta afirmativa en el cuestionario del 6º año de edad.

2. Sibilancias

La variable sibilancias se estableció a partir de la respuesta afirmativa a la pregunta "¿algún médico le dicho alguna vez que su hijo tenía sibilantes o pitos en el pecho?" en cualesquiera de los cuestionarios administrados durante el seguimiento.

Como variable dependiente de estudio se ha procedido a asignar a cada niño un fenotipo de sibilancias, como los propuestos por Martínez⁴:

- Nunca ha presentado sibilancias.
- Sibilancias precoces y transitorias: el primer episodio se inicia antes del primer año y no refiere nuevos episodios después de los 3 años de edad.
- Sibilancias tardías: el primer episodio se inicia a partir de los 3 años de edad.
- Sibilancias persistentes: el primer episodio se inicia antes de los 3 años de vida y siguen persistiendo a los 6 años de edad.

3. Seguimiento del asma y las sibilancias

Al cumplir las edades de 1, 2, 3, 4 y 6 años se realizó una entrevista telefónica a todos los padres acerca de la salud de sus hijos, incluyendo las preguntas del Interantional Study of Asthma and Allergy in Children (ISAAC)^{28,32}.

Variables independientes y covariables

1. Variable independiente de estudio: infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB)

El protocolo que se estableció para el seguimiento activo de las IRVB está ampliamente detallado en un artículo anterior⁵³. Seguidamente se hace una breve descripción del procedimiento seguido:

- Las madres habían sido reclutadas previamente durante el embarazo como parte del estudio global AMICS y habían firmado el consentimiento informado.
- En los días siguientes al parto, y mientras la madre estaba aún en el hospital, los padres fueron informados sobre los procesos respiratorios de vías bajas y los síntomas que debían notificar si los identificaban en su hijo/hija o si su pediatra los diagnosticaba.
- Se estableció un teléfono de contacto atendido por un contestador automático las 24 horas del día. El personal investigador contactaba con los padres y, en aquellos posibles casos de IRVB (de acuerdo con criterios diagnósticos validados para cuyo reconocimiento habían recibido una formación específica), fijaba una cita para realizar una visita domiciliaria, entre las 24-48 horas del inicio de los síntomas.
- La llamada era registrada como no IRVB o sí IRVB. Las IRVB diagnosticadas según las características clínicas definidas por Denny y Clyde⁵⁴, fueron laringotraqueobronquitis, bronquitis, bronquiolitis y neumonía. Aquel proceso que no se podía clasificar en alguna de ellas se catalogó como IRVB inespecífica.
- En el domicilio, se procedía a la exploración clínica estandarizada del niño con sospecha de IRVB, la confirmación del diagnóstico, la realización de un cuestionario sobre morbilidad respiratoria y la recogida de una muestra de moco nasofaríngeo.
- La técnica de recogida de esta muestra, estandarizada y validada en la literatura y en la práctica habitual, consistía en instilar 2 ml de suero fisiológico y proceder inmediatamente a su aspiración convencional mediante sonda nasal y jeringa de 5 ml estériles.
- Las técnicas de identificación virológica que se aplicaron a las muestras fueron las siguientes, siguiendo el mismo orden:
 1. Inmunofluorescencia directa sobre las células de descamación respiratoria con la finalidad de detectar antígeno de VRS y de coronavirus (Bartels Immunodiagnostics Supplies, Inc., Bellvue, WA, USA).
 2. Combinación de cultivo e inmunofluorescencia: cultivo con células de las líneas HEp-2 y MDCK y tinción con suero que contiene anticuerpos frente a los siguientes virus: virus *influenza* A y B, virus *parainfluenza* 1, 2 y 3,

adenovirus y VRS (Bartels Immunodiagnostics Supplies, Inc., Bellvue, WA, USA).

3. Cultivo convencional con células de las líneas HEp-2, MDCK y LLC-MK2 para la detección de VRS, enterovirus, virus *influenza* A y B, virus *parainfluenza* 1, 2 y 3, y adenovirus a través de las características citopáticas en estos cultivos.

- El seguimiento activo de las IRVB se realizó sólo durante el primer año de vida (Figura 3, en el apartado "Resultados").

2. Covariables

Hay diferentes variables que han sido identificadas en otros estudios publicados en la literatura como factores de riesgo o protectores en el desarrollo de asma en los niños.

Personales:

- Sexo
- Prematuridad (recién nacido antes de las 37 semanas de gestación)
- Peso al nacer (categorizado en < 2.500, 2.500-4.000 y > 4.000 gramos)
- Talla al nacer (categorizada en < 50 y > 50 centímetros)
- Pequeño para la edad gestacional (estar por debajo del percentil 10, según la edad gestacional)
- Estación al nacer (invierno: diciembre-febrero; primavera: marzo-mayo; verano: junio-agosto; otoño: septiembre-noviembre)
- Lactancia materna o artificial
- Asistencia a la guardería
- Toma de antibióticos para cualquier proceso en el 1º, 2º y 3er años de vida
- Toma de antibióticos para infecciones en el pecho en el 1º, 2º y 3er años de vida
- IgE total del niño, al nacer y a los 4 años de edad
- Pruebas cutáneas de alergia (*prick test*), a los 6 años de edad
- Hiperreactividad bronquial después del ejercicio, a los 6 años de edad

Familiares:

- Edad materna

- País de procedencia de la madre
- Nivel socioeconómico, definido por la ocupación paterna según la clasificación de 1990 del Registro General del Reino Unido (UK Registrar General's 1990), que agrupa las personas por similitud en sus calificaciones profesionales o especializaciones y que ha sido empleada en todas las publicaciones por el grupo de investigación
- Antecedentes de asma materna
- Antecedentes de atopia materna (cuando la madre refiere haber tenido rinitis y/o eccema)
- Antecedentes de asma paterna
- Número de hermanos

Ambientales (del hogar):

- Exposición al humo de tabaco prenatal y postnatal
- Exposición a aeorálgenos de ácaros y pelo de gato (Der p1 y Fel d1)
- Exposición al dióxido de nitrógeno (NO₂)
- Existencia de mascotas en casa

Recogida de datos y muestras, procesamiento de las muestras

Durante el tercer trimestre de embarazo

- Se pasó un cuestionario a los padres para recoger información sobre datos sociodemográficos, antecedentes familiares de asma y atopia, y consumo de tabaco por parte de ambos.
- El nivel socioeconómico, definido por la ocupación paterna según la clasificación de 1990 del Registro General del Reino Unido (UK Registrar General's 1990), se agrupó en:
 - I:** Directivos de la administración pública y de empresas de 10 o más asalariados. Profesiones asociadas a titulaciones de 2º y 3er ciclo universitario.
 - II:** Directivos de empresas con menos de 10 asalariados. Profesiones asociadas a una titulación de 1er ciclo universitario. Técnicos superiores. Artistas y deportistas.

III: Empleados de tipo administrativo y profesionales de apoyo a la gestión administrativa y financiera. Trabajadores de los servicios personales y de seguridad. Trabajadores por cuenta propia. Supervisores de trabajadores manuales.

IV: Trabajadores manuales cualificados y semicualificados.

V: Trabajadores no cualificados.

- Se realizó la determinación de inmunoglobulina E (IgE) específica frente a *Dermatophagoides pteronyssinus* 1 (Der p1) en sangre materna (Pharmacia CAP System RAST-FEIA, Pharmacia, Freiburg, Germany). Se definió atopia materna cuando los niveles eran superiores a 0,35 UI/ml.

Durante el parto o en el puerperio inmediato

- Se recogieron los datos antropométricos del recién nacido.
- Se realizó determinación de IgE total en sangre de cordón (Pharmacia CAP System low range FEIA, Pharmacia, Freiburg, Germany). Se definió como elevada cuando los niveles eran mayores de 0,35 UI/ml.
- Recogida y determinación de cotinina en sangre de cordón umbilical mediante radioinmunoanálisis según el método descrito por Pichini⁵⁵. El punto de corte de 14 ng/ml utilizado distingue entre recién nacido expuesto a madres fumadoras durante el embarazo de los que no lo están (menos de 14 ng/ml).

A los 6 meses de edad

- Recogida de muestras de polvo para la determinación de la concentración de aeroalérgenos procedentes de ácaros y de pelo de gato (Der p1 y Fel d1) en las muestras recogidas en las camas de los recién nacidos y en el suelo del salón-comedor de su vivienda. Los alérgenos se determinaron mediante técnica de ELISA según se describe en la publicación de Basagaña⁵⁶. Se agruparon en categorías de exposición según la capacidad del Der p1 y del Fel d1 para sensibilizar (> 2µg/g y > 1 µg/g de polvo, respectivamente) o de producir clínica (> 10 µg/g y > 8 µg/g de polvo, respectivamente) como sugieren Platts-Mills y de Weck⁵⁷.
- Colocación y recogida de un monitor pasivo específico (Toyo Roshi NO₂ filter badges, Tokio, Japan) expuesto durante una semana en el salón-comedor, para la

determinación de la concentración de NO₂, siguiendo el método descrito por Yanagisawa y Nishimura⁵⁸.

A partir del 1er año y hasta el 6º año de edad

- Cuestionario sobre síntomas respiratorios y de alergia. El cuestionario es el desarrollado por el ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) y ha sido validado en todos los idiomas del estudio y traducido con la técnica de traducción-retrotraducción^{28,32}.

Al 4º año de edad

- Cuestionario sobre el consumo de tabaco por los padres y la exposición pasiva del niño al humo ambiental del tabaco.
- Recogida de orina del niño para la determinación de cotinina. mediante radioinmunoanálisis según el método descrito por Pichini⁵⁵. El punto de corte de 14 ng/ml utilizado distingue entre recién nacido expuesto a madre fumadora durante el embarazo y recién nacido no expuesto (por debajo de 14 ng/ml).
- Extracción a los niños de una muestra de sangre de 5 ml mediante venopunción, en el hospital. Se determinó la IgE total frente a Der p1 y Fel d1 (Farmacia CAP System RAST-FEIA, Pharmacia, Freiburg, Germany). Se definió atopia cuando los valores eran superiores a 0,35 UI/ml.

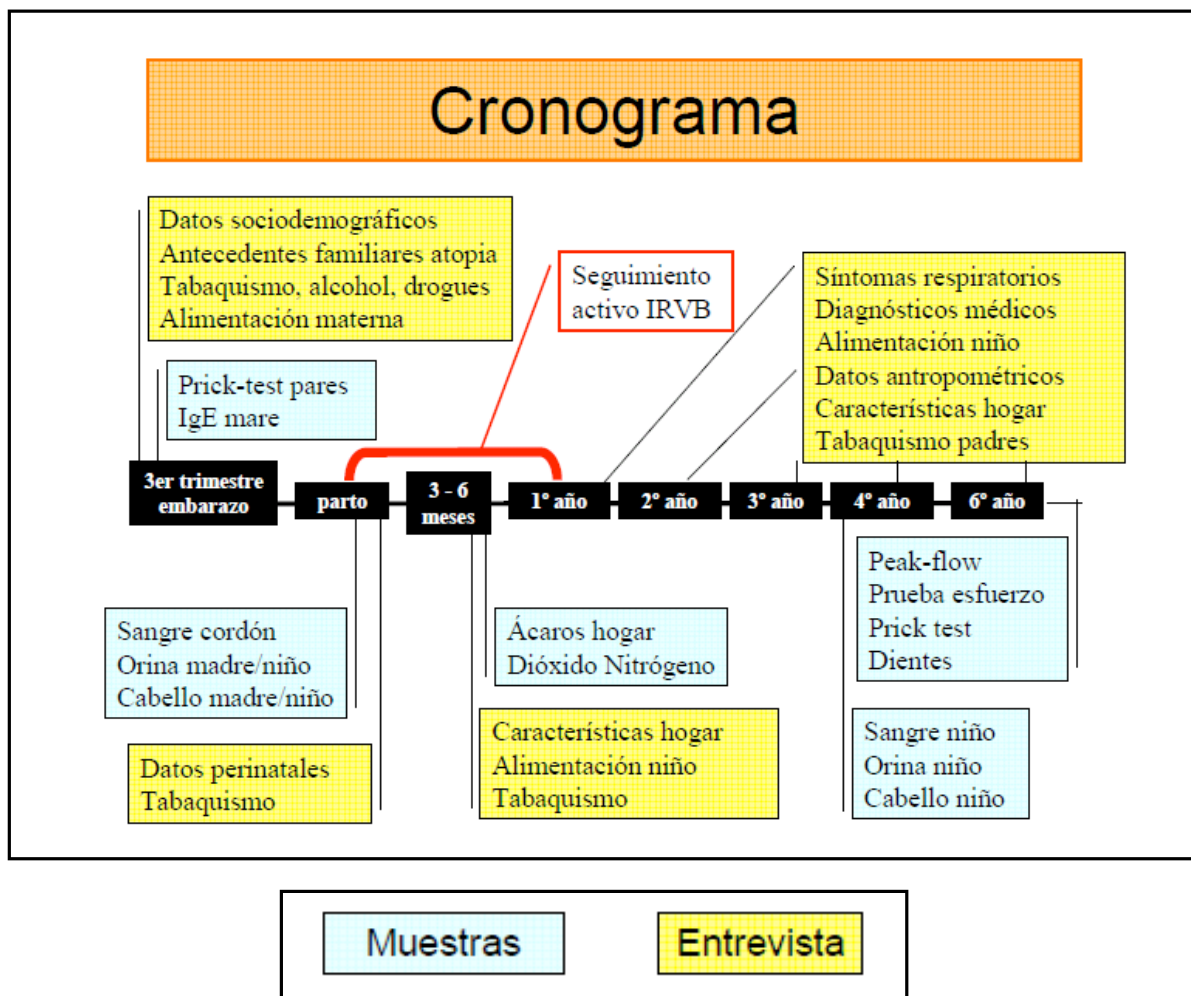
Al 6º año de edad

- Pruebas cutáneas de alergia (*prick test*) a los niños frente a los alérgenos: Der p1, Der p2, pelo de gato, pelo de perro, parietaria, gramíneas, polen de árboles y polen de hierbas. La respuesta se consideró positiva cuando la reacción a alguno de los alérgenos fue superior a 3 mm (Prick Test LETI, Laboratorios LETI SL, España). La sensibilización alérgica se ha definido como un pápula de diámetro superior a 3 mm, porque es la que correlaciona mejor con niveles de IgE específica superiores a 0,35 UI/ml, según Ronmark⁵⁹.
- Medición del flujo espiratorio máximo (*peak flow*) directamente (MicroPeak, Micro Medical Ltd), antes y después del ejercicio. La respuesta respiratoria al ejercicio se ha calculado como la variación del FEM > 15 % y > 20 % (a los 11 minutos y a los

16 minutos) después del ejercicio en comparación con el FEM previo al inicio de la prueba.

El cronograma de realización de las entrevistas y de la recogida de las diferentes muestras biológicas queda esquematizado en la Figura 2.

Figura 2. Cronograma de realización de las entrevistas y de la recogida de las diferentes muestras biológicas



Análisis estadístico

Se determinó la prevalencia y la incidencia de asma en los años 1º, 2º, 3º, 4º y 6º de seguimiento. También se determinó la prevalencia de los fenotipos de sibilancias en el

6º año de vida, así como la frecuencia de las sibilancias (nunca, ocasional, siempre) en cada año de seguimiento.

Se usó la prueba de χ^2 para comparar las prevalencias entre los grupos de estudio y el test de Mantel–Haenzels par analizar las tendencias entre categorías. Las diferencias con un valor de $p < 0,05$ fueron consideradas como estadísticamente significativas. Se calculó la *odds ratio* (OR) con su intervalo de confianza del 95 % (IC 95 %), mediante una regresión logística univariante para estimar la relación, sólo para aquellas variables con diferencias estadísticamente significativas.

Se realizaron modelos de regresión logística multivariante para valorar el efecto simultáneo entre las variables de estudio (diagnóstico de asma y fenotipos de sibilancias) y los factores de riesgo hallados en el análisis univariante. Cuando la variable de estudio fue el diagnóstico de asma a los 6 años de edad se utilizó el método por pasos hacia adelante (razón de verosimilitud), con entrada de las variables con $p < 0,10$ y salida con $p > 0,20$. Cuando la variable de estudio era alguno de los fenotipos de sibilancias, el método fue el multinominal. Para todos estos análisis multivariantes se incluyeron las variables que mostraran un valor de $p < 0,20$ en el análisis univariante. La significación estadística en estos modelos se basó en la razón de verosimilitud. Se calculó la OR con su IC 95 %.

Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS (SPSS versión 16.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Aspectos éticos

- El estudio obtuvo la aprobación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital del Mar (CEIC-IMAS), Barcelona.
- Los padres recibieron una carta de información y firmaron el consentimiento por escrito para participar en el estudio, el seguimiento, la visita domiciliaria, la exploración clínica, la obtención de muestras de moco nasofaríngeo, la extracción de sangre, las pruebas alérgicas cutáneas, la recogida de orina y las pruebas de función pulmonar, además del resto de pruebas incluidas en el protocolo del proyecto AMICS.

- Se han respetado los principios de la Declaración de Helsinki. Se ha seguido la normativa legal sobre la confidencialidad de los datos (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de carácter personal (LOPD)).

5. Resultados

Seguimiento de la cohorte

De los 487 recién nacidos incorporados al estudio de AMICS en Barcelona, se obtuvo información hasta el final del estudio en el 6º año de vida, de 368 niños (75,6 %) y hubo una pérdida de seguimiento de 119 niños (24,4 %). Los motivos más frecuentes de esta disminución en la participación fueron la falta de teléfono de contacto actualizado (que dificultó la localización de los padres) y el traslado de lugar de residencia de la familia (que hizo difícil el seguimiento de estos niños). La población del área de influencia del Hospital del Mar incluía algún barrio con un nivel socioeconómico bajo y con un nivel de inmigración importante ya en el inicio del estudio en el año 1996. El primer aspecto condicionaba el acceso estable a una línea de teléfono fija y/o móvil. Y el segundo propiciaba que algunas familias cambiaran de domicilio varias veces en la misma ciudad o de localidad, básicamente debido a aspectos laborales o sociales.

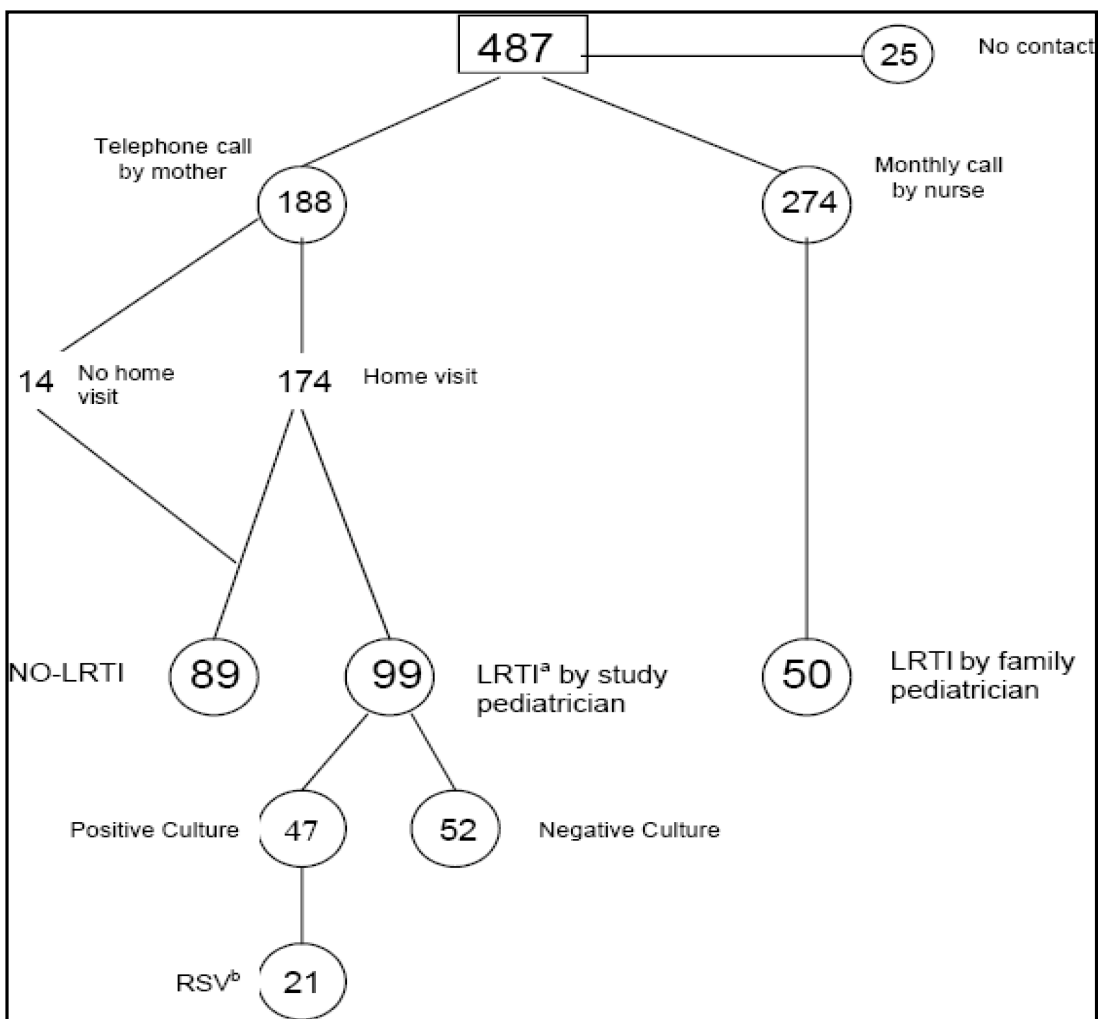
En la Tabla 3 (Apéndice, p. 65) se detalla el total de los datos disponibles, obtenidos a través de entrevistas y cuestionarios y de las muestras biológicas recogidas a lo largo del seguimiento. En el 4º año se recogió una muestra de orina para la determinación de cotinina en 296 niños y se tomó una muestra de sangre venosa para analizar la sensibilización a Der p1 y Fel d1 en 286 niños. En el 6º año de edad se realizó la prueba del ejercicio para determinar hiperreactividad bronquial después del ejercicio en 258 niños y se realizó la prueba del *prick test* a 250 niños.

Para valorar algún posible sesgo de participación, motivado por la pérdida de niños en el seguimiento de la cohorte, se compararon los datos del grupo de niños que finalizó el estudio con el grupo de niños que abandonó el estudio antes del 6º año (Tabla 4 (Apéndice, p. 67)). Destaca que los niños que no finalizaron el estudio eran hijos de madres inmigrantes ($p < 0,001$), de madres menores de 29 años de edad ($p < 0,001$) y no tenían hermanos mayores ($p = 0,02$). El grupo de madres inmigrantes que más abandonaron el estudio, en números absolutos, fueron las del colectivo perteneciente a mujeres procedentes de países latinoamericanos ($n = 25$, 3,5 %). Sin embargo, en números relativos las que no continuaron en el estudio fueron las mujeres procedentes de países de Extremo Oriente, como Filipinas (4,4 %). Es frecuente que estas mujeres envíen a sus hijos a Filipinas al cuidado de un familiar, al menos durante los primeros años de vida, para poder estabilizar su situación laboral en España. No se hallaron

diferencias estadísticamente significativas para los otros factores de riesgo. Con la excepción del dato que los niños que permanecieron en el estudio son los que presentaban mayor frecuencia de IRVB positivas a VRS ($p = 0,04$).

En la Figura 3 se muestra el algoritmo de seguimiento de la cohorte en relación con las infecciones respiratorias de vías inferiores (bajas) (IRVB), incluyendo datos sobre las visitas domiciliarias, el diagnóstico o no de IRVB, la existencia o no de resultados microbiológicos positivos, y la presencia o no del virus respiratorio sincitial (VRS).

Figura 3. Reclutamiento y seguimiento de la cohorte infantil



LRTI: lower respiratory tract illness; RSV: respiratory sincitial virus

Prevalencia e incidencia de asma

La prevalencia es la proporción de individuos de la población que padecen una enfermedad en un momento o en un período de tiempo determinado. La incidencia es el número de casos nuevos de una enfermedad que aparecen en una población durante un período de tiempo determinado.

La prevalencia de asma a los 6 años de edad, fue del 9,3 % (29/312). En las Tablas 5 y 6 (Apéndice, pp. 68, 69) se detallan las prevalencias e incidencias de asma, según el año en que se realiza la entrevista durante el seguimiento.

De los 29 niños que presentaban asma al final del estudio, se dispone de datos al inicio del seguimiento y al 6º año de edad de un total de 26 casos (Tabla 7 (Apéndice, p. 70)). De ellos, cabe destacar que 5 (19,2 %) ya fueron diagnosticados de asma en el primer año de vida, mientras que los 21 niños restantes (80,8 %) fueron diagnosticados a lo largo de los 6 años de vida.

Esto podría explicarse porque el diagnóstico del asma no es fácil de establecer a esta edad preescolar sólo con datos clínicos y muy pocos datos objetivos. Como vemos en la Tabla 8 (Apéndice, p. 71) sobre el acuerdo entre asma en los primeros años de vida y en el 6º año, la concordancia es mayor a partir del 2º año. Esto refuerza el concepto de que el asma es un diagnóstico que se va estableciendo durante la infancia.

En la Tabla 9 (Apéndice, p. 72) se detalla el total de los datos disponibles, obtenidos a través de entrevistas y cuestionarios y de las muestras biológicas recogidas a lo largo del seguimiento referidos al asma. Se encontró una mayor frecuencia de asma de forma estadísticamente significativa en los casos de existencia de infecciones respiratorias de vías bajas, en los niños que fueron recién nacidos prematuros, si el niño había tomado antibióticos por cuadros respiratorios de vías bajas durante el segundo año de vida, si existía una exposición ambiental elevada a aeroalergenos procedentes de epitelio de gato y si la IgE específica frente a los ácaros en el 4º año era elevada.

Prevalencia de sibilancias

En la Tabla 10 (Apéndice, p. 74) se detallan la frecuencia de sibilancias en los 12 últimos meses (nunca, ocasional o siempre) y según el año en que se realizó la entrevista.

En 368 niños se disponía de información sobre la presencia de sibilancias en cada uno de los años de seguimiento (del 1º al 6º año de edad) y permitió clasificarlos en los diferentes fenotipos de sibilancias (Tabla 11 (Apéndice, p. 75)): el 51,9 % nunca presentaron sibilancias, el 17,9 % presentaron sibilancias precoces, el 13,6 % presentaron sibilancias tardías y el 16,6 % presentaron sibilancias persistentes.

Prevalencia de las infecciones respiratorias de vías bajas

La Tabla 12 (Apéndice, p. 76) muestra las frecuencias de las IRVB que ocurrieron en el primer año de vida: IRVB inespecífica, neumonía, bronquitis, bronquiolitis, LTB (laringotraqueobronquitis). Un 50 % de las IRVB con muestra de moco disponible (68/136) fueron positivas a algunos de los virus respiratorios estudiados, siendo el más frecuente (41 %) el VRS (28/68).

Relación entre las infecciones respiratorias de vías bajas y asma

En la Tabla 13 (Apéndice, p. 77) se muestra la frecuencia de presentar alguno de los posibles factores de riesgo. En el análisis univariante, las IRVB son un factor importante junto con la prematuridad, haber tomado antibióticos para el pecho durante el segundo año de vida, haber estado expuesto a aeroalergenos de epitelio de gato por encima de los valores considerados como valorables y estar sensibilizado a los ácaros del polvo.

En el modelo final ajustado por las posibles variables que aporta el análisis multivariante se confirma que las variables asociadas al desarrollo de asma son las IRVB, la prematuridad, tener una madre atópica y haber recibido lactancia artificial.

Relación entre las infecciones respiratorias de vías bajas y el fenotipo de sibilancias

Sibilancias precoces

Los datos de la Tabla 14 (Apéndice, p. 78) revelan que los niños que fueron diagnosticados de sibilancias precoces tuvieron con más frecuencia IRVB en el primer año de vida. Además los niños con sibilancias precoces eran de sexo masculino y habían tomado antibióticos en el primer y el segundo años de vida con más frecuencia que los que no nunca habían presentado sibilancias.

Después de ajustar en el modelo multivariante, las variables que mantienen su asociación son las IRVB, el sexo masculino y haber tomado antibióticos para el pecho en los 2 primeros años de vida.

Sibilancias tardías

En la Tabla 15 (Apéndice, p. 79) los datos sugieren que los niños que fueron prematuros, de madres inmigrantes, expuestos al humo ambiental de tabaco a los 4 años de edad, sensibilizados al epitelio de gato y a los ácaros del polvo, además de presentar pruebas cutáneas positivas y de haber tomado antibióticos (no sólo para el pecho), fueron más propensos a desarrollar sibilancias en el período tardío.

No obstante, ninguna asociación se mantiene en el análisis multivariante.

Sibilancias persistentes

Nuestros datos sugieren que las IRVB, el sexo masculino, los antecedentes familiares de asma (de la madre y del padre), ser hijos de madres menores de 29 años y haber tomado antibióticos para el pecho podrían ser los factores más relevantes en los niños que presentaron sibilancias de forma persistente a lo largo de los 6 años de seguimiento.

En el modelo final del análisis multivariante sólo se mantienen las IRVB, el sexo masculino, los hijos de madres jóvenes (menores de 29 años) y haber tomado antibiótico para el pecho en el primer año de vida (Tabla 16 (Apéndice, p. 80)).

En las Tablas 17, 18 y 19 (Apéndice, pp. 81, 83, 85) se detalla el total de los datos disponibles, obtenidos a través de entrevistas y cuestionarios y de las muestras

biológicas recogidas a lo largo del seguimiento referidos a las sibilancias precoces, tardías y persistentes, respectivamente.

Relación entre las IRVB aisladamente y el diagnóstico de asma y el fenotipo de sibilancias

Las Tablas 20, 21, 22 y 23 (Apéndice, pp. 87, 88, 89, 90) muestran la relación entre las diferentes manifestaciones clínicas de las IRVB y el diagnóstico de asma en el 6º año y el fenotipo de sibilancias concreto (precoces, tardías y persistentes).

Sin embargo, el bajo número de casos en cada uno de los diagnósticos hace que no se pueda estratificar el análisis para cada uno de los procesos infecciosos del tracto respiratorio de vías bajas con el resto de los factores de riesgo.

6. Discusión

Este estudio se ha llevado a cabo con el fin identificar el efecto de las IRVB sobre el asma y las sibilancias, además de controlar este efecto por las numerosas covariables recogidas en diferentes momentos del seguimiento (exposición pasiva al tabaco durante la gestación, niveles de alérgenos domésticos, tabaquismo pasivo post-natal, niveles domésticos de NO₂ e infecciones víricas durante los 3 primeros años de vida). Nuestros hallazgos sugieren que la presentación de IRVB en el primer año de vida está relacionada con el diagnóstico de asma en el 6^o año de vida. Además, esta asociación se produce en los niños que presentan los fenotipos de sibilancias precoces y de sibilancias persistentes.

Los niños que han presentado asma tienen más riesgo de haber padecido IRVB, ser prematuros, tener madres atópicas y haber recibido lactancia artificial.

Los niños que se han clasificado en un patrón fenotípico de sibilancias precoces tienen más riesgo de IRVB, sexo masculino y haber recibido antibióticos para el pecho en los 2 primeros años de vida.

Para los niños con sibilancias tardías se puede sugerir que los factores ambientales irritantes tienen alguna influencia, más que las IRVB o los antecedentes familiares de asma. En este estudio las estimaciones crudas son significativas para las variables ambientales que acontecen en el período posterior al nacimiento del niño. Sin embargo, en el análisis multivariante no se mantienen estos riesgos, seguramente por falta de poder estadístico.

Finalmente, los niños con sibilancias persistentes tienen como factores de riesgo presentar IRVB, sexo masculino, ser hijos de madres jóvenes (menores de 29 años) y haber recibido antibióticos para el pecho en el primer año de vida.

La prevalencia de asma es similar a los países mediterráneos y menor respecto a los países anglosajones (Reino Unido, Australia, Nueva Zelanda, Irlanda, EEUU y Canadá)²⁸. En cambio, la prevalencia de los diferentes fenotipos de sibilancias en niños menores de 6 años de edad, es muy similar al estudio de Martínez⁴ en su cohorte infantil de Tucson.

Relación entre las IRVB con el diagnóstico de asma y el fenotipo de las sibilancias

Las IRVB presentaron una fuerte relación con el diagnóstico de asma a los 6 años de edad del niño, de acuerdo con los resultados de otros autores^{47, 50, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69}. Además, se ha podido demostrar que los niños que presentan los fenotipos de sibilancias precoces y persistentes también están muy relacionados con el hecho de haber presentado alguna IRVB en el primer año de vida.

Sin embargo, en nuestro estudio no se encuentra ninguna relación con las infecciones víricas causadas por VRS. Seguramente, esto se debe al escaso número de muestras que se recogieron durante el primer año de vida, período en que se llevó a cabo el seguimiento activo de los procesos respiratorios de vías bajas. Aunque numerosos estudios prospectivos demuestran la relación entre las IRVB por VRS y el asma^{47,50,62,66,67}, otros autores no han hallado esta asociación⁷⁰, y aún otros autores han demostrado la asociación entre las IRVB por rinovirus y el asma^{60, 61}.

Con los datos recogidos no se puede aportar información sobre si esta relación se debe a un efecto directo de las IRVB sobre el parénquima pulmonar a través de cambios estructurales ("*direct causation*") o, por el contrario, las IRVB son predictoras de asma, porque ésta es la que origina los cambios estructurales en el tejido pulmonar que facilitan que estos niños presenten con mayor frecuencia IRVB ("*reverse causation*"). Diferentes estudios avalan esta última posición porque los niños con antecedentes familiares de asma o de atopia presentan más IRVB que los niños sin antecedentes⁴⁷.

Sin embargo, el papel de las infecciones víricas en la patogenia del asma no está totalmente explicado. Se han propuesto tres posibles hipótesis para explicar su relación:

- Una de ellas, la que más aplicabilidad tiene en la edad pediátrica, sugiere que las infecciones víricas podrían alterar o modificar el desarrollo de la respuesta inmunitaria o interferir en el desarrollo del patrón neumológico normal y/o en la regulación del tono de las vías respiratorias. En esta línea, los virus serían agentes causales en el inicio del asma.
- Una segunda hipótesis es que los virus sólo son desencadenantes de la obstrucción de las vías respiratorias en sujetos que ya tienen una alteración funcional o estructural

previa de las vías aéreas o una susceptibilidad para desarrollar una respuesta inmunitaria que predispone a la obstrucción.

- Una tercera hipótesis, propuesta por Martínez⁷¹, intentaría explicar la aparente información contradictoria de la que se dispone en los diferentes estudios realizados hasta el momento, tanto en humanos como en animales. Esta hipótesis propone que la respuesta a los diferentes virus asociados al asma dependería de los antecedentes genéticos del individuo además de la simultaneidad en la exposición a otros factores ambientales y del momento en que se produce la infección vírica, en relación al grado de maduración de los sistemas respiratorio e inmunitario. Es decir, existe heterogeneidad en la respuesta porque hay una población infantil heterogénea en relación a factores determinantes. Ello explicaría lo que se observa en la relación asma-virus: no hay un solo un patrón de respuesta y de secuelas a largo plazo.

Martínez⁷¹ propone 4 áreas que dan información sobre el mecanismo de acción de las IRVB y la probable asociación entre IRVB y el desarrollo de asma:

- Alteraciones congénitas en las vías respiratorias (funcionales y/o estructurales): un tamaño menor de las vías respiratorias es un factor de riesgo para el desarrollo de sibilancias durante las infecciones víricas en los primeros años de vida y más si los niños son hijos de madres fumadoras durante el embarazo. Los estudios de Tucson y de Perth sugieren que esta función disminuida de las vías respiratorias, ya presente al nacer, está asociada al fenotipo de sibilancias transitorias precoces. Sin embargo, Martínez no considera que sea suficiente para incrementar el riesgo de sibilancias durante la edad escolar.
- Alteraciones congénitas en la regulación del tono de las vías respiratorias: son pocos los estudios realizados con esta técnica, pero concluyen que la respuesta a histamina o a metacolina no es indicadora de la función pulmonar y seguramente mide una función fisiológica del sistema respiratorio. Los estudios realizados indican que la HRB está relacionada con sibilancias, pero no con la historia de IRVB. Por lo tanto, da información sobre una característica intrínseca de las vías respiratorias que no tiene ninguna relación con la inflamación de las mismas. Esta idea está fundamentada en los hallazgos positivos de la relación entre la HRB y el polimorfismo existente en la respuesta a β_2 -adrenérgicos y la falta de relación entre la HRB y los marcadores de atopia.

- Alteraciones en la respuesta inmunitaria frente a las infecciones víricas: se ha hallado que algunos niños sintetizan menos anticuerpos frente al VRS, y otros tienen una respuesta inmunitaria con IFN- γ retardada.
- Posible relación entre la carga genética y las IRVB: aún no hay datos concluyentes, pero algunos estudios señalan que determinados polimorfismos de nucleótido simple podrían estar relacionados con las infecciones respiratorias.

Relación entre las covariables y el diagnóstico de asma a los 6 años

En este estudio se ha hallado también asociación entre la prematuridad y el desarrollo de asma a los 6 años. Sería coherente pensar que el niño prematuro podría estar más predispuesto a sufrir infecciones respiratorias. Sin embargo, diversos autores apuntan a que la prematuridad causaría un desarrollo pulmonar reducido^{8, 72, 73}, con una afectación del calibre de las vías respiratorias, sobre todo las alveolares. Este hecho podría aumentar los síntomas de sibilancias durante las infecciones respiratorias y a su vez aumentaría el diagnóstico de asma. Sin embargo, otros autores no han hallado esta asociación, porque es difícil separar los efectos de la prematuridad en sí de los efectos asociados a la ventilación mecánica que algunos de estos niños pueden llegar a necesitar en el período perinatal. Por lo tanto, se debe realizar una interpretación cautelosa de esta relación porque la evidencia disponible aporta resultados contradictorios. Ante esta discrepancia, una revisión sistemática reciente del tema, incluyendo metaanálisis, de Jaakkola⁷⁴ concluye que existe asociación, aunque ésta es débil (OR: 1,074; IC 95 %: 1,072-1,075). Desde el punto de vista clínico y preventivo, estos autores consideran que a estos niños se les debe tratar farmacológicamente de forma precoz para evitar una cronificación del asma y que se deben tomar medidas preventivas frente a factores ambientales y nutricionales conocidos en el desarrollo de asma.

La otra variable que en nuestro estudio se ha asociado al desarrollo de asma es la lactancia artificial, en coherencia con los datos que aporta una revisión multidisciplinaria reciente⁷⁵ que concluye que la lactancia materna exclusiva reduce el riesgo de asma y este efecto protector aumenta cuando la duración de la lactancia es superior a 4 meses. Sin embargo, también existen estudios^{76, 77} que concluyen que la lactancia materna no protege frente al desarrollo de asma y atopia, sino todo lo contrario, y podría aumentar el riesgo a largo plazo. Aunque los estudios

epidemiológicos puedan aportar información contradictoria, la recomendación continúa siendo facilitar la lactancia materna por sus otros efectos beneficiosos demostrados sobre el desarrollo neurológico, la obesidad y la hipertensión^{78, 79}. Más curioso ha sido el hallazgo de Fredriksson⁸⁰ que en su estudio establece una relación en U, es decir, la menor prevalencia de asma se encuentra en los niños que lactaron entre 4 y 6 meses y la mayor presencia de síntomas respiratorios crónicos en los niños que lactaron entre 7 y 9 meses. Los mecanismos plausibles para explicar como ejerce su función protectora o promotora son todavía no concluyentes. Se cree que la flora intestinal tendría un papel importante en este aspecto dado que la flora predominante de *Bifidobacterias* y *Lactobacilos* es la que se ha considerado como beneficiosa para obtener una respuesta inmunitaria protectora frente a las alergias. Los niños que tomaron lactancia materna parecen tener una flora dominante de este tipo en comparación con la de los niños que tomaron lactancia artificial, en los que hay un mayor predominio de *Bacteroides*, *Clostridium* y *Enterobacterias*⁸¹. No hay que olvidar que otro de los posibles mecanismos protectores de la lactancia materna sería la prevención de las infecciones respiratorias víricas durante la infancia^{53, 82}.

Relación entre las covariables y las sibilancias

De acuerdo con la evidencia publicada, parece que el asma es más frecuente entre niños de sexo masculino. En este estudio no se puede confirmar esta relación en los niños diagnosticados de asma pero sí en los que presentaron sibilancias precoces y persistentes. En varios estudios epidemiológicos ya se ha constatado este predominio del asma y la atopia en el sexo masculino antes de la pubertad, y después de la pubertad es más frecuente entre las niñas^{83, 84}. Con estos datos se ha sugerido que podrían tener un papel importante las hormonas sexuales, ya fuera al afectar a la autoinmunidad (como sucede en enfermedades como lupus eritematoso y tiroiditis de Hashimoto, que son más frecuentes en el sexo femenino) o al tener un efecto sobre la regulación y la respuesta inmunitaria. En este sentido, algunos autores⁸⁵ han determinado que el efecto de la testosterona es más antiinflamatorio, mientras que las hormonas estrogénicas a niveles fisiológicos tendrían más efecto proinflamatorio. Otro mecanismo plausible para explicar esta relación es que podría haber un desarrollo pulmonar diferente en ambos sexos. Algunos autores han encontrado que los niños tienen un menor desarrollo de las vías respiratorias en comparación con el mayor desarrollo del volumen pulmonar: se ha denominado desarrollo pulmonar disináptico⁸⁶.

En cambio, en las niñas este desarrollo de las vías respiratorias y del volumen pulmonar es más equilibrado. Otros autores han hallado que en la época fetal el pulmón de las niñas madura más rápidamente que el de los niños, es decir, sintetizan de forma precoz los componentes del surfactante pulmonar. Además de estos posibles mecanismos biológicos, hay que tener en cuenta también los factores socioculturales, como la diferente percepción de los síntomas o las diferentes conductas frente a la enfermedad de la propia persona o de los familiares en función del sexo.

En este estudio, los niños con sibilancias persistentes frecuentemente eran hijos de madres menores de 29 años de edad, en comparación con los niños que no presentaron nunca sibilancias. Otros estudios han hallado esta relación entre edad materna y asma o sibilancias. Sin embargo, lo que varía en ellos es la edad de corte. Sherriff⁸ estableció esta edad en 25 años, mientras que Metsalla⁸⁷ lo hizo en 35 años. Está bien documentado que en las mujeres adolescentes algunos factores metabólicos y el nivel socioeconómico están asociados a unos peores efectos en el embarazo⁸⁸. Sin embargo, en nuestro estudio la edad materna es un factor de riesgo independiente de otros factores perinatales y sociodemográficos recogidos, por lo que no se puede desdeñar la posibilidad de que la edad materna puedan ser un sustituto de algún indicador social aun no determinado.

Varios estudios han encontrado que el asma materna confiere mayor riesgo⁸⁹, pero también hay otros que demuestran lo contrario⁹⁰. Para añadir más incertidumbre a este tema, una revisión reciente de Burke⁹¹ señala que no se puede establecer una relación concluyente sobre si es el asma materno o el asma paterno el que tiene un mayor efecto. A su vez, Bjerg⁹² encuentra que el riesgo es multiplicativo cuando ambos padres son asmáticos, mientras que el efecto es aditivo cuando los padres son atópicos. En nuestro estudio, los niños que fueron diagnosticados de asma a los 6 años de edad existía relación con los antecedentes atópicos de la madre. Ying⁹³ explica esta relación porque la respuesta local del epitelio respiratorio está alterada en los niños asmáticos. Esta alteración inmunitaria sería hereditaria en el caso de padres con atopía, independientemente de si presentan asma o no. También sugiere que quizás los padres tienen hiperreactividad subclínica no reconocida de manera objetiva como asma. En nuestro estudio, sólo los niños que presentaron sibilancias persistentes tienen relación con el asma materna en el análisis univariante, aunque la relación se pierde en el modelo multivariante. Seguramente no se pueden tener resultados más

concluyentes en este fenotipo de sibilancias por el tamaño muestral. Nuestros datos sugieren que la contribución del asma materna y la atopia materna es diferente, según si la entidad que se valora es asma o sibilancias en el niño.

Recientemente, ha aumentado el interés sobre el posible efecto de la administración de antibióticos en los niños con el desarrollo de asma y atopia. En nuestro estudio se puede establecer que existe relación entre la toma de antibióticos y los niños que presentaron sibilancias precoces y persistentes. Es verdad que una explicación para esta asociación podría ser que hubiera un sesgo de memoria. Los padres de los niños con asma o sibilantes estarían más predispuestos a recordar la exposición a determinados factores, entre ellos la toma de antibióticos. Sin embargo, esta asociación ha sido también confirmada por otros autores y en una reciente revisión con metaanálisis⁹⁴. Además, coincide la asociación temporal entre las dos variables: aumento de la prevalencia de asma y aumento del uso de antibióticos, al menos en los países desarrollados. Resulta difícil explicar el posible mecanismo biológico subyacente. Si esta relación es causal, se ha barajado con la posibilidad de que los antibióticos aumentarían el riesgo de desarrollar asma y atopia porque evitarían aquellas infecciones bacterianas que predisponen a un desarrollo inmunitario hacia Th1^{95, 96}. Otra posibilidad es que los antibióticos afecten a la flora intestinal, que también modula el sistema inmunitario.

Fortalezas del estudio

Es difícil poder demostrar una relación causa-efecto en estudios observacionales, pero los estudios de cohorte son los de mayor valor para poder llegar a conclusiones bastante seguras, además de posibilitar la descripción de la historia natural del proceso estudiado. La validez de los resultados procedentes de esta cohorte prospectiva poblacional estriba en que permite recoger la información necesaria sobre los factores de riesgo ya en edad temprana y aporta datos sobre la incidencia y la secuenciación de los eventos en la historia natural del asma y las sibilancias.

La duración del seguimiento hasta los 6 años probablemente es escasa para detectar todos los casos de asma. Sin embargo, es la mínima deseada para obtener información fiable sobre el desarrollo de asma y sibilancias en la infancia. Además, en el principal estudio prospectivo de cohortes de Martinez, en Tucson (Arizona), se ha demostrado

que las prevalencias de los fenotipos de las sibilancias y los niveles de función pulmonar están establecidos a los 6 años de edad y no parecen cambiar de forma significativa en la adolescencia en los niños que presentaron síntomas de asma durante los años preescolares⁹⁷.

Es un estudio que estima el papel de las IRVB en el primer año de vida basada en un registro prospectivo de las mismas. El equipo investigador realizó un seguimiento activo de las IRVB en el primer año de vida con el fin de evitar la posibilidad de un sesgo de memoria por la información aportada sólo por los padres, que según el caso podría infravalorar o sobrevalorar los cuadros clínicos desarrollados. Además aporta información virológica concreta en las IRVB.

La tasa de seguimiento en el estudio es relativamente alta dada la dificultad de los estudios de cohorte para fidelizar a los participantes en el proyecto. La distribución de las características de estudio y de los posibles factores de riesgo o indicadores de exposición son similares entre el grupo que abandonó el seguimiento y el grupo que permaneció en el estudio, por lo que parece que las pérdidas no han introducido algún sesgo de información importante.

El seguimiento prospectivo minimiza el sesgo de información, sobre todo cuando la información es recogida antes de que tenga lugar el evento de estudio. Con el gran número de variables recogidas, en diferentes momentos de seguimiento, se ha intentado tener información de todas las posibles variables confusoras. Además, incorpora marcadores objetivos de algunos de los factores de riesgo, como la exposición al humo de tabaco a través de la cotinina detectada o la atopia mediante la determinación de IgE y *prick test* en los niños estudiados.

Limitaciones del estudio

Como se ha comentado anteriormente, los estudios de cohorte son los de mayor valor para poder llegar a conclusiones bastante seguras de causalidad. Sin embargo, también conllevan el riesgo de incrementar una pérdida de seguimiento. A pesar del esfuerzo de recoger un gran número de variables, la información en algunos de los posibles factores de riesgo no ha sido posible en una muestra amplia.

También es importante en estos estudios el tamaño muestral del que se parte, dado que en algunos casos puede hacer difícil poder afirmar si realmente no existe relación entre las variables o es debido a que no hay suficiente poder estadístico por un tamaño de muestra escaso. Además, algunos de los factores asociados a asma o alguno de los fenotipos de sibilancias tienen estimaciones de asociación con intervalos de confianza amplios, que reflejan que el tamaño muestral no es suficiente para ser más preciso.

Es verdad que se ha intentado llegar a realizar detección viral en las muestras recogidas, pero no todos los virus se incluyeron. Con posterioridad al inicio del estudio, se ha descubierto la relación con nuevos virus, como en el caso de metapneumovirus⁹⁸, y se han desarrollado nuevas técnicas de PCR que han permitido establecer a los rinovirus⁹⁹ como agentes de IRVB y no sólo de cuadros catarrales de vías superiores. Además, el número de muestras recogidas no es suficiente para tener suficiente potencia estadística y determinar qué virus destaca más en el desarrollo del asma. Sin embargo, conocer el efecto de cada uno de los virus no era uno de los objetivos principales del estudio, sino determinar el efecto de las IRVB sobre el asma y las sibilancias.

Este estudio no ha sido diseñado para identificar el mecanismo de relación entre estas variables con el asma y las sibilancias, sino para determinar si las IRVB tendrían alguna relación y qué otras variables podrían estar además asociadas. Por lo tanto, no se puede aportar información sobre la función pulmonar o aspectos inmunológicos.

La información obtenida por entrevista anual puede aumentar el sesgo de memoria para alguna de los factores de riesgo, pero esto sólo afectaría principalmente en la precisión de algunas de las asociaciones halladas.

Finalmente, nuestros resultados podrían no ser generalizables por tratarse de una población mediterránea, con un componente de inmigración destacado y con una amplia exposición al humo de tabaco (hasta un 60 % de los niños de la cohorte estaban expuestos al humo de tabaco a partir de la madre fumadora u otros familiares).

Implicaciones (aplicabilidad) de los resultados

Desde el punto de vista clínico y preventivo es importante poder llegar a tener un mejor conocimiento de la patogenia de las IRVB y el desarrollo de asma o sibilancias con el objetivo final de poder evitar, o reducir en la medida de lo posible, su progresión. En este sentido, el estudio demuestra el papel de las IRVB durante el primer año en el desarrollo de asma y sibilancias en la infancia y en la aparición de los diferentes fenotipos de expresión clínica, concretamente sibilancias precoces y sibilancias persistentes.

Aunque algunos de estos resultados coinciden con los de otros estudios, se debe tener en cuenta que es posible que existan otros factores confusores residuales. Por lo tanto, son necesarias más investigaciones para estudiar estas relaciones.

Además, de forma general nuestros resultados sugieren que esta relación es compleja y que probablemente dependa de otros factores, no sólo los ambientales, sino también personales y genéticos. Por lo tanto, su conocimiento permitiría tomar medidas preventivas frente a factores ambientales y nutricionales conocidos para el desarrollo de infecciones respiratorias de vías bajas y de asma.

7. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio confirman que las **IRVB** que tienen lugar durante el primer año de vida **están relacionadas** con el diagnóstico de **asma** y con los fenotipos clínicos de **sibilancias precoces** y de **sibilancias persistentes**. Estos resultados concuerdan con el concepto de que las IRVB producidas en un período crítico del desarrollo, como son los primeros años de vida, tienen un papel importante en la aparición posterior de asma y de sibilancias. En este sentido, es importante controlar los factores relacionados con las IRVB víricas en los niños menores de 1 año: mayor asma materna, tener menos hermanos, menor duración lactancia materna y menor nivel socioeconómico.

Además, confirma algunas de las covariables ya conocidas para el desarrollo de asma a los 6 años de edad y aporta datos sobre otras para cada uno de los fenotipos de sibilancias.

8. Resumen

Introducción. En la literatura existen pocos datos prospectivos procedentes del seguimiento de una cohorte poblacional desde el nacimiento acerca de la relación entre las infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) y el desarrollo de asma y sibilancias durante la infancia. En muchos pacientes con asma y especialmente en los niños, las infecciones respiratorias provocan sibilancias. Los estudios prospectivos han indicado de forma concluyente que las infecciones víricas pueden desencadenar asma. La descripción de la historia natural de los cuadros con sibilancias en la infancia, incluyendo los distintos fenotipos, y los factores causados relacionados puede permitir disponer de una cohorte de niños que podrán ser seguidos hasta la edad adulta para valorar la relación del asma en la infancia y el asma del adulto.

Hipótesis. Las infecciones respiratorias de vías inferiores que ocurren durante el primer año de vida son un factor de riesgo para la posterior aparición de asma y de sibilancias en los niños.

Objetivos. (1) Evaluar el papel de las infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) que ocurren durante el primer año de vida como factor de riesgo del posterior desarrollo de asma y de sibilancias en los niños. (2) Progresar en el conocimiento de la historia natural de los trastornos con sibilancias en la infancia, incluyendo los fenotipos episódico, transitorio y persistente. (3) Determinar la prevalencia e incidencia de niños que desarrollan asma y sibilancias durante la infancia. (4) Determinar la relación de otras variables con las IRVB y el desarrollo del asma y sibilancias. (5) Disponer de una cohorte de niños que podrán ser seguidos hasta la edad adulta para valorar la relación del asma en la infancia y el asma del adulto.

Metodología. El estudio sigue un diseño de la cohorte poblacional de recién nacidos AMICS (del área de influencia del Hospital del Mar, Barcelona), con seguimiento prospectivo de los niños hasta los 6 años de edad. Como variables dependientes se han estudiado: asma y sibilancias; como variable independiente se ha estudiado: infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB), además de diversas covariables como prematuridad, peso al nacer, antecedentes maternos de asma, exposición prenatal al tabaco y otras.

Resultados. Se obtuvo información hasta el final del estudio, en el 6º año de vida, de 368 niños. La prevalencia de asma a los 6 años de edad fue del 9,3 %. Las variables asociadas al desarrollo de asma son las IRVB, ser prematuro, tener madre atópica y haber tomado lactancia artificial. Los niños que fueron diagnosticados de sibilancias precoces y de sibilancias persistentes tuvieron con más frecuencia IRVB en el primer año de vida.

Conclusiones. Los resultados obtenidos en este estudio confirman que las IRVB que tienen lugar durante el primer año de vida están relacionadas con el diagnóstico de asma y con los fenotipos clínicos de sibilancias precoces y de sibilancias persistentes. Estos resultados concuerdan con el concepto de que las IRVB producidas en un período crítico del desarrollo, como son los primeros años de vida, tienen un papel importante en la aparición posterior de asma y de sibilancias.

9. Apéndice

Tabla 3. Datos de seguimiento de la cohorte (entrevista y muestras biológicas)

		Seguimiento					
		NO		SI			
	N	n	%	n	%	valor de p	
Enfermedades respiratorias de vías bajas							
IRVB seguimiento activo (sí)	487	31	29,5	118	33,1	ns	
Cultivo vírico (positivo)	99	8	44,4	39	48,1	ns	
VRS (positivo)	47	1	12,5	20	51,3	0,04	
Características antropométricas al nacer							
Sexo (masculino)	457	53	51,5	191	54,0	ns	
Prematuro (< 37 semanas)	450	7	6,9	28	8,0	ns	
Pequeño x edad gestacional (< percentil 10)	454	8	7,8	30	8,5	ns	
Talla (< 50 cm)	417	48	53,9	169	51,5	ns	
Peso al nacer	< 2.500 g	455	8	7,8	31	8,8	
	2.500-4.000 g		87	84,5	309	87,8	ns
	> 4.000 g		8	7,8	12	3,4	
Estación	Invierno	462	28	26,7	85	23,8	
	Primavera		19	18,1	104	29,1	
	Verano		32	30,5	87	24,4	ns
	Otoño		26	24,8	81	22,7	
Datos sociodemográficos							
País nacimiento madre (no España)	462	50	47,6	59	16,5	< 0,001	
Edad materna (< 29 años)	462	68	64,8	133	37,3	< 0,001	
Nivel socioeconómico	I-II	384	17	21,5	54	17,7	
	III		47	59,5	194	63,6	ns
	IV-V		15	19,0	57	18,7	
Antecedentes familiares de asma y atopia							
Asma materna (sí)	461	6	5,7	32	9,0	ns	
Atopia materna (sí)	452	24	23,5	68	19,4	ns	
Asma paterna (sí)	441	5	5,2	20	5,8	ns	
IgE específica materna	< 0,35 UI/ml	286	46	69,7	180	81,8	
	0,35- 0,70 UI/ml		2	3,0	8	3,6	ns
	> 0,70 UI/ml		18	27,3	32	14,5	
Contagio infecciones por hermanos o guardería							
Hermanos mayores (sí)	449	40	40,0	186	53,3	0,02	
Asistencia a la guardería 1º año (sí)	392	16	21,3	61	19,2	ns	

Tabla 3 (continuación)

	N	Seguimiento				valor de p
		NO		SI		
	n	%	n	%		
Lactancia materna y antibióticos	N	n	%	n	%	valor de p
Lactancia materna (sí)	392	58	77,3	244	77,0	ns
Lactancia materna (< 12 semanas)	297	27	49,1	55	44,6	ns
Ha tomado antibióticos 1er año (sí)	385	42	58,3	201	64,2	ns
Ha tomado antibióticos 2º año (sí)	245	25	69,4	140	67,0	ns
Ha tomado antibióticos 3er año (sí)	170	13	56,5	108	73,5	ns
Ha tomado antibióticos pecho 1º año (sí)	385	24	33,3	90	28,8	ns
Ha tomado antibióticos pecho 2º año (sí)	245	13	36,1	51	24,4	ns
Ha tomado antibióticos pecho 3er año (sí)	170	1	4,3	34	23,1	0,038
Exposición ambiental a aeroalérgenos e irritantes	N	n	%	n	%	valor de p
Fel d1 en polvo (> 1 µg/g de polvo)	358	12	17,1	62	21,5	ns
Fel d1 en polvo (> 8 µg/g de polvo)	358	5	7,1	20	6,9	ns
Der p1 en polvo (> 2 µg/g de polvo)	359	17	24,3	83	28,7	ns
Der p1 en polvo (> 10 µg/g de polvo)	359	4	5,7	28	9,7	ns
Niveles NO ₂ (> 45 ppb)	347	39	59,1	146	52,0	ns
Mascotas en casa 1er año (sí)	391	23	30,7	117	37,0	ns
Cotina sangre cordón (> 14 ng/ml)	349	23	30,7	98	35,8	ns
Atopia en el niño	N	n	%	n	%	valor de p
IgE total sangre cordón (> 0,35 UI/ml)	399	31	35,2	98	31,5	ns

Tabla 4. Resumen de la tabla 3, comparación entre los niños que completaron el estudio y los que lo abandonaron antes de los 6 años, aportando sólo las diferencias estadísticamente significativas

	Seguimiento					
	N	NO		SI		valor de p
		n	%	n	%	
País nacimiento madre (No España)	462	50	47,6	59	16,5	<0,001
Edad materna (< 29 años)	462	68	64,8	133	37,3	<0,001
Hermanos mayores (si)	449	40	40,0	186	53,3	0,02
VRS (positivo)	47	1	12,5	20	51,3	0,04

Tabla 5. Prevalencia del asma, según el año en que se realiza la entrevista de seguimiento

	N	n	%
Asma 1er año	391	20	5,1
Asma 2º año	249	10	4,0
Asma 3er año	170	9	5,3
Asma 4º año	354	26	7,3
Asma 6º año	312	29	9,3

Tabla 6. Incidencia del asma, según el año en que se realiza la entrevista de seguimiento

	N	n	%
Asma 1er año	391	20	5,1
Asma 2º año	249	4	1,6
Asma 3er año	170	6	3,5
Asma 4º año	354	6	1,7
Asma 6º año	312	13	4,2

Tabla 7. Concordancia del diagnóstico de asma entre el 1º año y el 6º año

		Asma 6º año		
		sí	no	total
Asma 1er año	sí	5	8	13
	no	21	236	257
	total	26	244	270

Tabla 8. Acuerdo entre diagnóstico de asma en los primeros años de vida y el 6º año

	N	Casos con acuerdo	Índice Kappa	valor de p
Asma 1º - Asma 6º	270	5/26	0,20	< 0,001
Asma 2º - Asma 6º	188	7/15	0,56	< 0,001
Asma 3º - Asma 6º	124	3/9	0,30	0,001
Asma 4º - Asma 6º	291	15/28	0,52	< 0,001

Tabla 9. Datos de la cohorte referidos al asma

		ASMA					
		NO			SÍ		
		N	n	%	n	%	valor de p
Enfermedades respiratorias de vías bajas							
IRVB seguimiento activo (sí)		305	88	31,9	17	58,6	0,004
Cultivo vírico (positivo)		72	27	44,3	7	63,6	0,236
VRS (positivo)		34	13	48,1	4	57,1	0,671
Características antropométricas al nacer							
Sexo (masculino)		304	149	54,2	19	65,5	0,243
Prematuro (< 37 semanas)		299	20	7,4	6	20,7	0,016
Pequeño x edad gestacional (< percentil 10)		301	21	7,7	3	10,3	0,620
Talla (< 50 cm)		283	128	50,4	20	69,0	0,058
Peso al nacer	< 2.500 g	302	23	8,4	4	13,8	
	2.500-4.000 g		239	87,5	25	86,2	0,364
	> 4.000 g		11	4,0	0	0,0	
Estación	Invierno	305	61	22,1	11	37,9	
	Primavera		80	29,0	7	24,1	0,288
	Verano		69	25,0	5	17,2	
	Otoño		66	23,9	6	20,7	
Datos sociodemográficos							
País nacimiento madre (no España)		305	45	16,3	4	13,8	0,726
Edad materna (< 29 años)		305	98	35,5	12	41,4	0,531
Nivel socioeconómico	I-II	263	43	17,8	4	19,0	
	III		153	63,2	14	66,7	0,867
	IV-V		46	19,0	3	14,3	
Antecedentes familiares de asma y atopia							
Asma materna (sí)		304	25	9,1	3	10,3	0,824
Atopia materna (sí)		298	48	17,8	8	27,6	0,202
Asma paterna (sí)		295	14	5,3	3	10,3	0,265
IgE específica materna	< 0,35 UI/ml	186	135	80,8	16	84,2	
	0,35- 0,70 UI/ml		8	4,8	0	0,0	0,619
	> 0,70 UI/ml		24	14,4	3	15,8	
Contagio infecciones por hermanos o guardería							
Hermanos mayores (sí)		297	142	52,8	17	60,7	0,424
Asistencia a la guardería 1er año (sí)		270	49	20,1	4	15,4	0,566

Tabla 9 (continuación)

	ASMA					
		NO		SI		p-valor
Lactancia Materna y Antibióticos	N	n	%	n	%	
Lactancia artificial (sí)	270	49	20,1	8	30,8	0,204
Lactancia materna (< 12 semanas)	211	81	42,0	10	55,6	0,266
Ha tomado antibióticos 1er año (sí)	266	157	65,1	19	76,0	0,275
Ha tomado antibióticos 2º año (sí)	186	114	66,7	10	66,7	1,000
Ha tomado antibióticos 3er año (sí)	124	88	76,5	7	77,8	0,932
Ha tomado antibiótico pecho 1er año (sí)	266	67	27,8	10	40,0	0,200
Ha tomado antibiótico pecho 2º año (sí)	186	36	21,1	7	46,7	0,024
Ha tomado antibiótico pecho 3er año (sí)	124	27	23,5	3	33,3	0,506
Exposición ambiental a aeroalérgenos e irritantes	N	n	%	n	%	p-valor
Fel d1 en polvo (>1 µg/g de polvo)	258	52	22,0	5	22,7	0,940
Fel d1 en polvo (>8 µg/g de polvo)	258	14	5,9	4	18,2	0,031
Der p1 en polvo (>2 µg/g de polvo)	259	67	28,3	6	27,3	0,921
Der p1 en polvo (>10 µg/g de polvo)	259	24	10,1	2	9,1	0,877
Mascotas en casa el 1er año	269	87	35,8	13	50,0	0,155
Mascotas en casa el 4º año	291	123	46,8	14	50,0	0,745
NO ₂ (> 45 ppb)	247	113	50,7	14	58,3	0,476
Cotina sangre cordón (> 14 ng/ml)	229	73	35,8	10	40,0	0,679
Cotina orina 4º año (> 14 ng/ml)	243	81	37,3	5	19,2	0,068
Atopia e hiperreactividad bronquial	N	n	%	n	%	p-valor
IgE total en sangre de cordón (> 0,35 UI/ml)	265	73	30,7	8	29,6	0,911
Prick test 6º año (positivo)	249	72	32,3	0	38,5	0,526
IgE específica 4º año (> 0,35 UI/ml)	242	39	17,9	8	33,3	0,069
IgE específica gato 4º año (> 0,35 UI/ml)	243	7	3,2	0	0,0	0,374
IgE específica ácaros 4º año (> 0,35 UI/ml)	243	36	16,4	8	33,3	0,041
% DIF FEM 11 MINUTOS > 15 %	257	25	10,8	5	19,2	0,206
% DIF FEM 11 MINUTOS > 20 %	257	11	4,8	3	11,5	0,149
% DIF FEM 16 MINUTOS > 15 %	257	15	6,5	3	11,5	0,339
% DIF FEM 16 MINUTOS > 20 %	257	4	1,7	2	7,7	0,056

Tabla 10. Frecuencia de presentar sibilancias en los 12 últimos meses, según el año de la entrevista

	N	Nunca		Ocasional		Siempre	
		n	%	n	%	n	%
Sibilancias 1er año	392	283	72,2	102	26,0	7	1,8
Sibilancias 2º año	249	190	76,3	57	22,9	2	0,8
Sibilancias 3er año	171	140	81,9	31	18,1	0	0,0
Sibilancias 4º año	355	260	73,2	88	24,8	7	2,0
Sibilancias 6º año	311	268	86,2	41	13,2	2	0,6

Tabla 11. Prevalencia de los fenotipos de sibilancias

	n	%
Nunca sibilancias	191	51,9
Sibilancias precoces	66	17,9
Sibilancias tardías	50	13,6
Sibilancias persistentes	61	16,6

Tabla 12. Virus detectados en las 136 muestras de moco de 99 niños, según el diagnóstico clínico

Virus detectado	Diagnóstico clínico				
	IRVB	Neumonía	Bronquitis	Bronquiolitis	LTB
	inespecífica n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Virus negativo	8 (50,0)	4 (40,0)	46 (52,9)	7 (41,2)	3 (50,0)
VRS	3 (18,7)	3 (30,0)	17 (19,5)	5 (29,4)	0 (0,0)
Otros virus	5 (31,2)	3 (30,0)	24 (27,6)	5 (29,4)	3 (50,0)
valor de p	0,879	0,672	0,486	0,540	0,255
Total con virus positivo	8 (50,0)	6 (60,0)	41 (47,1)	10 (58,8)	3 (50,0)
Total muestras	16	10	87	17	6

IRVB: infecciones respiratorias de vías bajas; LTB: laringotraqueobronquitis; VRS: virus respiratorio sincitial

Tabla 13. Relación entre los factores de riesgo y asma

ASMA	Univariante			Multivariante		
	OR	IC 95 %	valor de p	OR	IC 95 %	valor de p
IRVB seguimiento activo (sí)	3,03	1,39-6,61	0,005	31,92	2,78-366,18	0,005
Prematuridad (< 37 semanas)	3,26	1,19-8,93	0,021	16,40	1,45-185,12	0,024
Ha tomado antibiótico para el pecho en el 2º año (sí)	3,28	1,11-9,65	0,031			
Fel d1 en polvo (> 8 µg/g polvo)	3,52	1,05-11,82	0,041			
IgE específica en el 4º año a ácaros (> 0,35 UI/ml)	2,54	1,01-6,38	0,047			
Atopia materna				21,21	1,46-308,48	0,025
Lactancia artificial (sí)				10,49	1,18-93,02	0,035

Tabla 14. Relación entre los factores de riesgo y sibilantes precoces

Sibilantes precoces	Univariante			Multivariante		
	OR	IC 95 %	valor de p	OR	IC 95 %	valor de p
IRVB seguimiento activo (sí)	11,20	5,82-21,53	< 0,001	6,03	2,28-15,99	< 0,001
Sexo (masculino)	1,88	1,05-3,37	0,034	3,43	1,31-8,97	0,012
Ha tomado antibiótico 1er año (sí)	2,46	1,25-4,83	0,009			
Ha tomado antibiótico pecho 1er año (sí)	5,78	3,01-11,09	<0,001	3,60	1,26-10,27	0,016
Ha tomado antibiótico pecho 2º año (sí)	4,23	1,90-10,32	<0,001	3,19	1,04-9,77	0,042

Tabla 15. Relación entre los factores de riesgo y sibilantes tardíos

Sibilantes tardíos	Univariante			Multivariante		
	OR	IC 95 %	valor de p	OR	IC 95 %	valor de p
Prematuridad (< 37 semanas)	3,17	1,20-8,40	0,020			
País nacimiento madre (no España)	2,73	1,30-5,69	0,008			
Ha tomado antibiótico 2º año (sí)	3,08	0,97-9,79	0,056			
Cotina en orina 4º año (> 14 ng/ml)	2,01	1,02-3,96	0,043			
<i>Prick test</i> 6º año (positivo)	2,69	1,26-5,71	0,010			
IgE específica 4º año (0,35 UI/ml)	2,37	1,04-5,38	0,040			
IgE específica gato 4º año (0,35 UI/ml)	5,47	0,88-33,97	0,068			
IgE específica ácaros 4º año (0,35 UI/ml)	2,66	1,16-6,12	0,021			

Tabla 16. Relación entre los factores de riesgo y sibilantes persistentes

Sibilantes persistentes	Univariante			Multivariante		
	OR	IC 95 %	valor de p	OR	IC 95 %	valor de p
IRVB seguimiento activo (sí)	6,30	3,32-11,96	< 0,001	3,59	1,12-11,51	0,031
Sexo (masculino)	2,26	1,22-4,15	0,009	4,99	1,54-16,17	0,007
Edad materna (< 29 años)	1,78	0,99-3,21	0,054	3,86	1,19-12,55	0,024
Asma materna (sí)	2,71	1,06-6,89	0,037			
Asma paterna (sí)	2,77	0,96-8,01	0,059			
Ha tomado antibiótico 2º año (sí)	2,58	1,12-5,94	0,026			
Ha tomado antibiótico pecho 1er año (sí)	4,90	2,51-9,56	< 0,001	3,95	1,05-14,83	0,042
Ha tomado antibiótico pecho 2º año (sí)	6,97	3,04-16,01	< 0,001	6,33	1,73-23,11	0,005
Ha tomado antibiótico pecho 3º año (sí)	10,34	3,52-30,40	< 0,001			

Tabla 17. Datos de la cohorte referidos a las sibilancias precoces

		SIBILANCIAS					
		Nunca		Precoces			
		N	n	%	n	%	valor de p
Enfermedades respiratorias de vías bajas							
IRVB seguimiento activo (sí)		249	29	15,8	44	67,7	< 0,001
Cultivo viral (positivo)		51	10	43,5	13	46,4	0,833
VRS (positivo)		23	5	50,0	6	46,2	0,855
Características antropométricas al nacer		N	n	%	n	%	valor de p
Sexo (masculino)		247	86	47,0	40	62,5	0,033
Prematuridad (< 37 semanas)		244	11	6,1	4	6,3	0,938
Pequeño x edad gestacional (< percentil 10)		245	14	7,7	7	11,1	0,403
Talla al nacer (< 50 cm)		223	82	50,3	26	43,3	0,355
Peso al nacer	< 2.500 gr	246	15	8,2	6	9,4	
	2.500-4.000 gr		161	88,5	57	89,1	0,751
	> 4.000 gr		6	3,3	1	1,6	
Estación	Invierno	249	43	23,4	15	23,1	
	Primavera		55	29,9	20	30,8	
	Verano		44	23,9	16	24,6	0,996
	Otoño		42	22,8	14	21,5	
Datos sociodemográficos		N	n	%	n	%	valor de p
País nacimiento madre (no España)		249	27	14,7	9	13,8	0,870
Edad materna (< 29 años)		249	62	33,7	24	36,9	0,638
Nivel socioeconómico	I-II	221	29	17,6	9	16,1	
	III		105	63,6	41	73,2	0,322
	IV-V		31	18,8	6	10,7	
Antecedentes familiares de asma y atopia		N	n	%	n	%	valor de p
Asma materna (sí)		248	11	6,0	7	10,8	0,204
Atopia materna (sí)		245	29	15,9	14	22,2	0,258
Asma paterna (sí)		240	8	4,5	2	3,1	0,626
IgE específica materna	< 0,35 UI/ml	156	94	80,3	35	89,7	
	0,35-0,70 UI/ml		6	5,1	0	0,0	0,258
	> 0,70 UI/ml		17	14,5	4	10,3	
Contagio infecciones por hermanos o guardería		N	n	%	n	%	valor de p
Hermanos mayores (sí)		244	89	49,4	37	57,8	0,250
Asistencia a la guardería 1er año (sí)		222	30	19,0	17	26,6	0,211

Tabla 17 (continuación)

	SIBILANCIAS					
		Nunca		Precoces		valor de p
Lactancia materna y antibióticos	N	n	%	n	%	
Lactancia artificial (sí)	222	32	20,3	14	21,9	0,787
Lactancia materna (< 12 semanas)	174	54	43,2	23	46,9	0,655
Ha tomado antibiótico 1er año (sí)	220	92	58,2	48	77,4	0,008
Ha tomado antibiótico 2º año (sí)	147	62	57,9	29	72,5	0,106
Ha tomado antibiótico 3er año (sí)	109	57	75,0	20	60,6	0,129
Ha tomado antibiótico pecho 1er año (sí)	220	26	16,5	33	53,2	< 0,001
Ha tomado antibiótico pecho 2º año (sí)	147	14	13,1	16	40,0	< 0,001
Ha tomado antibiótico pecho 3er año (sí)	109	11	14,5	7	21,2	0,384
Exposición ambiental a aeroalérgenos e irritantes	N	n	%	n	%	valor de p
Fel d1 en polvo (> 1µg/g de polvo)	206	39	25,7	9	16,7	0,179
Fel d1 en polvo (> 8 µg/g de polvo)	206	12	7,9	3	5,6	0,570
Der p1 en polvo (> 2 µg/g de polvo)	207	46	30,1	15	27,8	0,751
Der p1 en polvo (> 10µg/g de polvo)	207	17	11,1	5	9,3	0,704
Mascotas en casa el 1er año	221	57	36,3	24	37,5	0,867
Mascotas en casa el 4º año	246	79	43,6	31	47,7	0,574
NO ₂ (> 45 ppb)	196	72	50,7	29	53,7	0,707
Cotina en sangre de cordón (> 14 ng/ml)	191	49	35,5	21	39,6	0,597
Cotina en orina 4º año (> 14 ng/ml)	199	48	32,2	19	38,0	0,454
Atopia e hiperreactividad bronquial	N	n	%	n	%	valor de p
IgE total en sangre de cordón (> 0,35 UI/ml)	221	47	29,4	22	36,1	0,337
Prick test 6º año (positivo)	164	32	27,1	14	30,4	0,671
IgE específica 4º año (>0,35 UI/ml)	191	21	15,3	9	16,7	0,819
IgE específica gato 4º año (> 0,35 UI/ml)	192	2	1,5	2	3,6	0,340
IgE específica ácaros 4º año (> 0,35 UI/ml)	192	19	13,9	8	14,5	0,903
% DIF FEM 11 MINUTOS > 15%	171	12	9,7	5	10,6	0,851
% DIF FEM 11 MINUTOS > 20%	171	5	4,0	1	2,1	0,546
% DIF FEM 16 MINUTOS > 15%	171	8	6,5	1	2,1	0,258
% DIF FEM 16 MINUTOS > 20%	171	2	1,6	0	0,0	0,381

Tabla 18. Datos de la cohorte referidos a las sibilancias tardías

		SIBILANCIAS					
		Nunca			Tardías		
		N	n	%	n	%	valor de p
Enfermedades respiratorias de vías bajas							
IRVB seguimiento activo (sí)		231	29	15,8	12	25,5	0,118
Cultivo viral (positivo)		33	10	43,5	4	40,0	0,853
VRS (positivo)		14	5	50,0	3	75,0	0,393
Características antropométricas al nacer		N	n	%	n	%	valor de p
Sexo (masculino)		230	86	47,0	25	53,2	0,448
Prematuridad (< 37 semanas)		228	11	6,1	8	17,0	0,016
Pequeño x edad gestacional (< percentil 10)		229	14	7,7	5	10,6	0,514
Talla al nacer (< 50 cm)		209	82	50,3	27	58,7	0,314
Peso al nacer	< 2.500 gr	229	15	8,2	5	10,6	
	2.500-4.000 gr		161	88,5	39	83,0	0,527
	> 4.000 gr		6	3,3	3	6,4	
Estación	Invierno	231	43	23,4	12	25,5	
	Primavera		55	29,9	9	19,1	
	Verano		44	23,9	18	38,3	0,164
	Otoño		42	22,8	8	17,0	
Datos sociodemográficos		N	n	%	n	%	valor de p
País nacimiento madre (no España)		231	27	14,7	15	31,9	0,006
Edad materna (< 29 años)		231	62	33,7	18	38,3	0,554
Nivel socioeconómico	I-II	199	29	17,6	8	23,5	
	III		105	63,6	20	58,8	0,719
	IV-V		31	18,8	6	17,6	
Antecedentes familiares de asma y atopia		N	n	%	n	%	valor de p
Asma materna (sí)		230	11	6,0	5	10,6	0,266
Atopia materna (sí)		228	29	15,9	11	23,9	0,204
Asma paterna (sí)		220	8	4,5	3	6,8	0,536
IgE específica materna	< 0,35 UI/ml	146	94	80,3	23	79,3	
	0,35-0,70 UI/ml		6	5,1	2	6,9	0,930
	> 0,70 UI/ml		17	14,5	4	13,8	
Contagio infecciones por hermanos o guardería		N	n	%	n	%	valor de p
Hermanos mayores (sí)		225	89	49,4	24	53,3	0,641
Asistencia a la guardería 1er año (sí)		195	30	19,0	6	16,2	0,696

Tabla 18 (continuación)

	SIBILANCIAS					
		Nunca		Tardías		valor de p
	N	n	%	n	%	
Lactancia materna y antibióticos						
Lactancia artificial (sí)	195	32	20,3	12	32,4	0,111
Lactancia materna (< 12 semanas)	130	54	43,2	12	48,0	0,659
Ha tomado antibiótico 1er año (sí)	194	92	58,2	21	58,3	0,991
Ha tomado antibiótico 2º año (sí)	128	62	57,9	17	81,0	0,047
Ha tomado antibiótico 3er año (sí)	92	57	75,0	13	81,2	0,594
Ha tomado antibiótico pecho 1er año (sí)	194	26	16,5	3	8,3	0,217
Ha tomado antibiótico pecho 2º año (sí)	128	14	13,1	0	0,0	0,079
Ha tomado antibiótico pecho 3er año (sí)	92	11	14,5	2	12,5	0,837
Exposición ambiental a aeroalérgenos e irritantes						
Fel d1 en polvo (> 1µg/g de polvo)	186	39	25,7	7	20,6	0,536
Fel d1 en polvo (> 8 µg/g de polvo)	186	12	7,9	2	5,9	0,688
Der p1 en polvo (> 2 µg/g de polvo)	189	46	30,1	6	17,6	0,144
Der p1 en polvo (> 10µg/g de polvo)	189	17	11,1	1	2,9	0,144
Mascotas en casa el 1er año	194	57	36,3	12	32,4	0,658
Mascotas en casa el 4º año	230	79	43,6	24	49,0	0,505
NO ₂ (> 45 ppb)	176	72	50,7	22	64,7	0,142
Cotina en sangre de cordón (> 14 ng/ml)	176	49	35,5	15	39,5	0,653
Cotina en orina 4º año (> 14 ng/ml)	194	48	32,2	22	48,9	0,041
Atopia e hiperreactividad bronquial						
IgE total en sangre de cordón (> 0,35 UI/ml)	201	47	29,4	13	31,7	0,771
Prick test 6º año (positivo)	156	32	27,1	19	50,0	0,009
IgE específica 4º año (>0,35 UI/ml)	177	21	15,3	12	30,0	0,036
IgE específica gato 4º año (> 0,35 UI/ml)	177	2	1,5	3	7,5	0,043
IgE específica ácaros 4º año (> 0,35 UI/ml)	177	19	13,9	12	30,0	0,018
% DIF FEM 11 MINUTOS > 15%	162	12	9,7	6	15,8	0,294
% DIF FEM 11 MINUTOS > 20%	162	5	4,0	4	10,5	0,126
% DIF FEM 16 MINUTOS > 15%	162	8	6,5	6	15,8	0,073
% DIF FEM 16 MINUTOS > 20%	162	2	1,6	2	5,3	0,205

Tabla 19. Datos de la cohorte referidos a las sibilancias persistentes

		SIBILANCIAS					
		Nunca		Persist.			
		N	n	%	n	%	valor de p
Enfermedades respiratorias de vías bajas		N	n	%	n	%	valor de p
IRVB seguimiento activo (sí)		245	29	15,8	33	54,1	< 0,001
Cultivo viral (positivo)		43	10	43,5	12	60,0	0,280
VRS (positivo)		12	5	50,0	6	50,0	1,000
Características antropométricas al nacer		N	n	%	n	%	valor de p
Sexo (masculino)		243	86	47,0	40	66,9	0,008
Prematuridad (< 37 semanas)		239	11	6,1	5	8,6	0,500
Pequeño x edad gestacional (< percentil 10)		241	14	7,7	4	6,8	0,817
Talla al nacer (< 50 cm)		222	82	50,3	34	57,6	0,335
Peso al nacer < 2.500 gr		241	5	8,2	5	8,5	
2.500-4.000 gr			161	88,5	52	88,1	0,998
> 4.000 gr			6	3,3	2	3,4	
Estación Invierno		245	43	23,4	15	24,6	
Primavera			55	29,9	20	32,8	
Verano			44	23,9	9	14,8	0,491
Otoño			42	22,8	17	27,9	
Datos sociodemográficos		N	n	%	n	%	valor de p
País nacimiento madre (no España)		245	27	14,7	8	13,1	0,763
Edad materna (< 29 años)		245	62	33,7	29	47,5	0,052
Nivel socioeconómico I-II		215	29	17,6	8	16,0	
III			105	63,6	28	56,0	0,373
IV-V			31	18,8	14	28,0	
Antecedentes familiares de asma y atopia		N	n	%	n	%	valor de p
Asma materna (sí)		244	11	6,0	9	14,8	0,031
Atopia materna (sí)		241	29	15,9	14	23,7	0,174
Asma paterna (sí)		236	8	4,5	7	11,7	0,051
IgE específica materna < 0,35 UI/ml		152	94	80,3	28	80,0	
0,35-0,70 UI/ml			6	5,1	0	0,0	0,316
> 0,70 UI/ml			17	14,5	7	20,0	
Contagio infecciones por hermanos o guardería		N	n	%	n	%	valor de p
Hermanos mayores (sí)		240	89	49,4	36	60,0	0,156
Asistencia a la guardería 1er año (sí)		216	30	19,0	8	13,8	0,374

Tabla 19 (continuación)

	SIBILANCIAS					
		Nunca		Persists.		valor de p
Lactancia materna y antibióticos	N	n	%	n	%	
Lactancia artificial (sí)	216	32	20,3	15	25,9	0,376
Lactancia materna (< 12 semanas)	168	54	43,2	19	44,2	0,910
Ha tomado antibiótico 1er año (sí)	215	92	58,2	40	70,2	0,112
Ha tomado antibiótico 2º año (sí)	148	62	57,9	32	78,0	0,023
Ha tomado antibiótico 3er año (sí)	98	57	75,0	18	81,8	0,506
Ha tomado antibiótico pecho 1er año (sí)	215	26	16,5	28	49,1	< 0,001
Ha tomado antibiótico pecho 2º año (sí)	148	14	13,1	21	51,2	< 0,001
Ha tomado antibiótico pecho 3er año (sí)	98	11	14,5	14	63,6	< 0,001
Exposición ambiental a aeroalérgenos e irritantes	N	n	%	n	%	valor de p
Fel d1 en polvo (> 1µg/g de polvo)	200	39	25,7	7	14,6	0,112
Fel d1 en polvo (> 8 µg/g de polvo)	200	12	7,9	3	6,2	0,706
Der p1 en polvo (> 2 µg/g de polvo)	201	46	30,1	16	33,3	0,669
Der p1 en polvo (> 10µg/g de polvo)	201	17	11,1	5	10,4	0,893
Mascotas en casa el 1er año	215	57	36,3	24	41,4	0,496
Mascotas en casa el 4º año	241	79	43,6	29	48,3	0,527
NO ₂ (> 45 ppb)	193	72	50,7	23	45,1	0,492
Cotina en sangre de cordón (> 14 ng/ml)	183	49	35,5	13	28,9	0,415
Cotina en orina 4º año (> 14 ng/ml)	199	48	32,2	18	36,0	0,623
Atopia e hiperreactividad bronquial	N	n	%	n	%	valor de p
IgE total en sangre de cordón (> 0,35 UI/ml)	209	47	29,4	16	32,7	0,662
Prick test 6º año (positivo)	165	32	27,1	17	36,2	0,251
IgE específica 4º año (>0,35 UI/ml)	190	21	15,3	12	22,6	0,233
IgE específica gato 4º año (> 0,35 UI/ml)	190	2	1,5	1	1,9	0,832
IgE específica ácaros 4º año (> 0,35 UI/ml)	190	19	13,9	12	22,6	0,142
% DIF FEM 11 MINUTOS > 15%	172	12	9,7	17	14,6	0,357
% DIF FEM 11 MINUTOS > 20%	172	5	4,0	4	8,3	0,256
% DIF FEM 16 MINUTOS > 15%	172	8	6,5	3	6,2	0,961
% DIF FEM 16 MINUTOS > 20%	172	2	1,6	2	4,2	0,319

Tabla 20. Frecuencia y asociación de cada una de las IRVB con el diagnóstico de asma

	Asma		valor de p	OR	IC 95 %	valor de p
	no	sí				
Bronquitis	26,8 (74/276)	55,2 (16/29)	0,001	3,36	1,54-7,32	0,002
Bronquiolitis	5,1 (14/276)	13,8 (04/29)	0,058			
Neumonía	3,6 (10/276)	10,3 (03/29)	0,088			
LTB	1,8 (05/276)	3,4 (01/29)	0,546			
IRVB inespecífica	3,6 (10/276)	20,7 (06/29)	< 0,001	6,34	2,31-20,81	0,001

LTB: laringotraqueobronquitis; IRVB: infección respiratoria inespecífica

Tabla 21. Frecuencia y asociación de cada una de las IRVB con el diagnóstico de sibilante precoces

	Sibilantes precoces		valor de p	OR	IC 95 %	valor de p
	no	sí				
Bronquitis	12,0 (22/184)	55,4 (36/65)	< 0,001	9,14	4,72-17,71	< 0,001
Bronquiolitis	2,7 (05/184)	10,8 (07/65)	0,009	4,32	1,32-14,13	0,016
Neumonía	1,6 (03/184)	7,7 (05/65)	0,017	5,03	1,17-21,27	0,030
LTB	0,0 (00/184)	6,2 (04/65)	0,001			
IRVB inespecífica	2,2 (04/184)	12,3 (08/65)	0,001	6,32	1,83-21,75	0,003

LTB: laringotraqueobronquitis; IRVB: infección respiratoria inespecífica

Tabla 22. Frecuencia y asociación de cada una de las IRVB con el diagnóstico de sibilante tardíos

	Sibilantes tardíos		valor de p	OR	IC 95 %	valor de p
	no	sí				
Bronquitis	12,0 (22/184)	23,4 (11/47)	0,045	2,25	1,00-5,05	0,049
Bronquiolitis	2,7 (05/184)	4,3 (02/47)	0,583			
Neumonía	1,6 (03/184)	0,0 (00/47)	0,378			
LTB	0,0 (00/184)	0,0 (00/47)	-			
IRVB inespecífica	2,2 (04/184)	0,0 (00/47)	0,308			

LTB: laringotraqueobronquitis; IRVB: infección respiratoria inespecífica

Tabla 23. Frecuencia y asociación de cada una de las IRVB con el diagnóstico de sibilante persistentes

	Sibilantes persistentes		valor de p	OR	IC 95 %	valor de p
	no	si				
Bronquitis	12,0 (22/184)	52,5 (32/61)	< 0,001	8,12	4,15-15,90	< 0,001
Bronquiolitis	2,7 (05/184)	8,2 (05/61)	0,061			
Neumonía	1,6 (03/184)	9,8 (06/61)	0,003	6,52	1,59-27,19	0,009
LTB	0,0 (00/184)	3,3 (02/61)	0,014			
IRVB inespecífica	2,2 (04/184)	9,8 (06/61)	0,009	4,91	1,34-18,02	0,017

LTB: laringotraqueobronquitis; IRVB: infección respiratoria inespecífica

10. Anexos

Publicación nº 1: Puig C, Sunyer J, Garcia-Algar O, Muñoz L, Pacifici R, Pichini S, Vall O. Incidence and risk factors of lower respiratory tract illnesses during infancy in a Mediterranean birth cohort. Acta Paediatr. 2008 Oct;97(10):1406-11. PMID: 18631341.

Resumen

Objetivo: Investigar la tasa de incidencia, los agentes respiratorios víricos y los determinantes de infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) en niños menores de 1 año de edad.

Métodos: Un total de 487 niños fueron reclutados al nacer para el estudio de cohorte infantil multicéntrico sobre asma (AMICS) en Barcelona (España). Los casos de IRVB fueron diagnosticados a través de un registro activo, incluyendo una visita domiciliar y test viral en las muestras de lavado nasofaríngeo, durante el primer año de vida. Se cuantificaron los niveles de cotinina en sangre de cordón, los aeroalérgenos domésticos, el NO₂ del hogar y la inmunoglobulina E materna y neonatal. Otras variables maternas y del niño se obtuvieron mediante cuestionarios estructurados.

Resultados: La tasa de incidencia de haber sufrido al menos una IRVB fue de 38,7 niños por 100 personas-año. El agente vírico aislado con mayor frecuencia fue el virus respiratorio sincitial (44,7 %). El riesgo de sufrir una IRVB fue mayor entre los niños con antecedentes maternos de asma y entre los que tenían hermanos (OR = 2,4; IC 95 %: 0,98-6,08 y OR = 1,8; IC 95 %: 1,04-3,21, respectivamente). El riesgo de IRVB fue menor en los niños que recibieron lactancia materna más de 12 semanas (OR = 0,26; IC 95 %: 0,26-0,86) y en aquellos procedentes de clase social baja (OR = 0,16; IC 95 %: 0,06-0,42).

Conclusión: Las IRVB víricas son frecuentes en los niños menores de 1 año y guardan relación con el asma materna, tener hermanos, la lactancia materna y el nivel socioeconómico.

REGULAR ARTICLE

Incidence and risk factors of lower respiratory tract illnesses during infancy in a Mediterranean birth cohort

Carme Puig (carmepuig@yahoo.es)^{1,2}, Jordi Sunyer³, Oscar Garcia-Algar^{1,2}, Laura Muñoz³, Roberta Pacifici⁴, Simona Pichini⁴, Oriol Vall^{1,2}

1.Pediatric Department, Environmental and Pediatric Research Unit (URIE), Hospital del Mar, Barcelona, Spain

2.Department of Pediatrics, Obstetrics, Gynecology and Preventive Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

3.Center for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM), Barcelona, Spain

4.Department of Therapeutic Research and Medicines Evaluation, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italy

Keywords

Birth cohort, Incidence rate, Infants, Lower respiratory tract illnesses, Risk factors, RSV

Correspondence

Dr Oscar Garcia-Algar, Pediatric Service, Hospital del Mar, Passeig Marítim, 25-29, 08003 Barcelona, Spain.
Tel: +34-93-248-35-51 |
Fax: +34-93-248-32-54 |
Email: 90458@imas.imim.es

Received

8 September 2007; revised 29 April 2008; accepted 17 June 2008.

DOI:10.1111/j.1651-2227.2008.00939.x

Abstract

Aim: To investigate the incidence rate, viral respiratory agents and determinants of lower respiratory tract illnesses (LRTIs) in infants younger than 1 year.

Methods: A total of 487 infants were recruited at birth for the Asthma Multicenter Infant Cohort Study in Barcelona (Spain). Cases of LRTIs were ascertained through an active register including a home visit and viral test in nasal lavage specimens during the first year of life. Cotinine in cord blood, household aeroallergens, indoor NO₂ and maternal and neonatal IgE were measured. Other maternal and infants' characteristics were obtained from structured questionnaires.

Results: The incidence rate of at least one LRTI was 38.7 infants per 100 persons-years. The most frequently isolated viral agent was respiratory syncytial virus (44.7%). The risk of LRTIs was higher in infants with a maternal history of asthma and in those with siblings (OR = 2.4; 95% CI: 0.98–6.08 and OR = 1.8; 95% CI: 1.04–3.21, respectively). The risk of LRTIs was lower in infants who were breast fed for more than 12 weeks (OR = 0.26; 95% CI: 0.26–0.86) and in those from a low socioeconomic class (OR = 0.16; 95% CI: 0.06–0.42).

Conclusion: Viral LRTIs are frequent in infants younger than 1 year of age and there is an inter-relationship between maternal asthma, siblings, breast feeding and socioeconomic status.

INTRODUCTION

Acute illnesses of the respiratory tract are the most common diseases during childhood and most of them involve the upper respiratory tract. However, the incidence of lower respiratory tract illnesses (LRTIs) could be considerable, as well. In developed countries, a LRTI occurs in 20–39% of infants and children under 3 years of age (1–3). Moreover, LRTIs not only constitute a burden on health care costs (4), but are also a possible risk factor for developing asthma and allergy during early childhood (5) and may lead to chronic obstructive pulmonary disease in late adulthood (6).

Recent studies reporting incidence and risk factors for LRTIs in early infancy are based on hospitalized infants (7), on infants with a predisposition to allergy (8,9), on a particular type of LRTI (with or without wheezing) (10) or on a causal agent (such as respiratory syncytial virus [RSV]) (11).

The aim of the present study was to determine the incidence rate of LRTIs during infancy, identify viral respiratory

agents and ascertain the association of LRTIs with different risk factors in a Mediterranean population.

METHODS

Design and subjects

The Barcelona birth cohort consisted of 487 infants from the Asthma Multicenter Infant Cohort Study (AMICS). The AMICS study was designed to investigate the effects of several pre- and postnatal environmental exposures on the inception of atopy and asthma, and included four cohorts in different European countries. Mothers and their infants were recruited during the prenatal visit to the Hospital del Mar, Barcelona, Spain. Participants were invited to join the study if they anticipated living in the city during the study period and had a telephone. The clinical research ethics committee (CEIC-IMAS) approved the study protocol and mothers signed a written informed consent form. Data collection on LRTI was conducted between January 1996 and October 1999, when infants were recruited prenatally and followed up until they reached 1 year of age. Data on the presence of LRTI were obtained from two sources.

Diagnoses established by study paediatricians

On enrolment, the mother was instructed to contact the local 24-h coordinating centre if her infant developed relevant symptoms lasting at least two consecutive days

Abbreviations

AMICS, asthma multicenter infant cohort study; *Der p1*, *Dermatophagoides pteronyssinus 1*; ETS, environmental tobacco smoke; *Fel d1*, *Felis domesticus 1*; LRTI, lower respiratory tract illness; NO₂, nitrogen dioxide; NO-LRTI, no lower respiratory tract illness; NPA, nasopharyngeal aspirate; RSV, respiratory syncytial virus; SES, socioeconomic status.

(runny nose, fever, dry cough, wet cough and difficulty breathing). Within 24 h, a home visit was arranged and infant visited by a study paediatrician. The event was classified as no LRTI (NO-LRTI) or LRTI. LRTI was further stratified according to the clinical features previously described (1) into laryngotracheobronchitis, bronchitis, bronchiolitis and pneumonia. A fifth diagnosis of non-specific LRTI was made when the infant could not be classified within the other four diagnoses (these infants often only had wheezing). A new LRTI was recorded if the infant was symptom free for at least 14 days between two episodes. A nasopharyngeal aspirate (NPA) sample was obtained only in infants with a LRTI diagnosed by the study paediatrician, instilling 2 mL of normal saline into the nasopharynx and aspirating with a sterile syringe. The NPA sample was preserved at 4°C in a sterile container for transport to the laboratory and was analysed within 4–8 h.

Diagnoses established by family paediatricians

During the follow-up, the mother was called every month by a nurse, who inquired whether the infant had been diagnosed with a LRTI during the previous month by the family paediatrician without the 24-h coordinating centre being informed. The occurrence of a LRTI was defined as a positive answer to the question, 'Has a doctor told you that your son/daughter has laryngotracheobronchitis, bronchitis, bronchiolitis, pneumonia or wheezing, since we spoke with you last?' A negative answer was registered as NO-LRTI.

Respiratory virus detection in NPA samples

NPA samples were analysed at a local virology research laboratory (Hospital Vall d'Hebron, Barcelona) and were classified as positive when a respiratory virus was identified by at least one of the following procedures:

- Rapid detection for RSV and coronavirus with direct fluorescent monoclonal antibodies (Bartels Immunodiagnosics Supplies, Inc., Bellevue, WA, USA).
- Virus culture in human epidermal carcinoma (HEp-2 line) and Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells and indirect fluorescent antibody identification with a pool of monoclonal respiratory viral antibodies for RSV, adenovirus, influenza virus types A and B, and parainfluenza types 1, 2 and 3 (Bartels Immunodiagnosics Supplies, Inc.).
- Conventional tissue culture in HEp-2, MDCK and the LLC-MK2 line of rhesus monkey kidney cells for examination of the characteristic cytopathic effect.

Questionnaire information

At the first prenatal care visit to the hospital, usually during the third trimester of pregnancy, a detailed questionnaire including information on smoking habits, sociodemographic characteristics and parental history of asthma was completed. Social class was defined by paternal occupation using the UK Registrar General's 1990 classification, which groups people with similar levels of occupational skill.

Upon delivery, general information (gestational age, gender, weight, length and head circumference at birth) was recorded from medical files.

One year after birth, a total of 381 (82.5%) mothers were contacted for a structured telephonic interview to record the approximate frequency of respiratory symptoms such as wheezing, cough and noisy breathing in the preceding months caused by airway secretions, as well as information on the duration of breast feeding (regardless of whether other foods were given), number of siblings, day care attendance and parental smoking.

Exposure assessment

Specific IgE to *Dermatophagoides pteronyssinus* (*Der p1*) were determined in maternal blood samples (62.2%) obtained in the third trimester of pregnancy by the Pharmacia CAP System RAST-FEIA (Pharmacia, Freiburg, Germany) and total IgE levels in umbilical cord blood (85.4%) were determined by Pharmacia CAP System low-range FEIA (Pharmacia). Maternal atopy was defined by detectable serum levels (>0.35 UI/mL) of specific IgE to *Der p1* and elevated cord blood total IgE levels were defined at concentrations of >0.35 UI/mL.

Umbilical cord serum (75.1%) was analysed to determine cotinine concentration by radioimmunoassay as a biomarker of exposure to tobacco smoke during pregnancy. A cut-off of 1 ng/mL was used for cord serum cotinine to distinguish exposed from non-exposed mothers (12).

Dust samples and passive NO₂ filter badges (Toyo Roshi NO₂ filter badges, Tokyo, Japan) were collected 6 months after birth (78%). Concentrations of household dust mite (*Der p1*) and cat (*Fel d1*) allergens were determined using an enzyme-linked immunosorbent assay according to standard procedures described elsewhere (13) and grouped in categories with potential relevance for sensitization to *Der p1* and *Fel d1* (>2 µg/g and >1 µg/g of dust, respectively) as reported in the international literature (14). Indoor NO₂ concentration was measured by colorimetric reaction and spectrophotometric analysis described previously (15).

Statistical analysis

The incidence rate was estimated by incidence density and calculated as I/PT, where I is the number of infants with at least one LRTI during the observation period, and PT is the amount of population time observed in the population during this period.

Chi-square tests were used to assess differences between infants with NO-LRTIs and LRTIs in maternal, neonatal and postnatal characteristics. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Multivariate logistic regression was used to evaluate associations between predictor variables and LRTIs. Variables were chosen for the multivariable model if they entered at a level of $p \leq 0.1$; odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (95% CI) were estimated.

All analyses were performed using the Stata 7.0 statistical package (StataCorp, College Station, TX, USA).

RESULTS

Study population characteristics

More than half of the newborns (52.7%) were male. The mean maternal age was 29 years (SE: 5.4). The maternal ethnic distribution (74.9% Spanish vs. 25.1% non-Spanish) reflected the demographics of the population attending the Hospital del Mar. Socioeconomic status (SES) measured by paternal profession was broadly distributed as follows: 18.5% of fathers were in professional, managerial or technical occupations (classes I and II); 21.5% were in skilled non-manual occupations (class III, NM); 41.5% were in skilled manual (class III, M) occupations and 18.5% were in partly skilled or unskilled occupations (classes IV and V).

LRTI distribution and incidence rate

A total of 149 infants had at least one LRTI during the first year of life (Fig. 1). Of these, 106 infants (71.1%) had one LRTI and 43 (28.8%) had two or more other episodes of LRTI. The study paediatrician directly identified at least one LRTI in 99 infants (66.4%), and the monthly calls by the nurse identified retrospectively at least one LRTI in 50 infants (33.6%). The incidence rate of at least one LRTI was of 38.7 infants per 100 persons-years during the follow-

Table 1 Distribution of lower respiratory tract illnesses (LRTIs) in infants based on diagnosing paediatrician

Distribution of LRTIs	LRTIs by study paediatricians (n = 99) ^a (%) [‡]	LRTIs by family paediatricians (n = 50) [†] (%) [‡]
Non-specific LRTIs	10	6
Pneumonia	6	10
Bronchitis	84	82
Bronchiolitis	17	10
Laringotracheobronchitis	5	4

^aA total of 136 LRTI episodes in 99 infants.

[†]A total of 71 LRTI episodes in 50 infants.

[‡]Sum of percentages is not 100% because some infants could have had more than one LRTI during this period.

up. The most frequent clinical diagnosis was bronchitis (Table 1).

Clinical diagnosis in the infants with an NPA sample

Out of the 99 infants with an NPA sample, one virus was detected in 43 infants (43.4%) and two viruses were detected

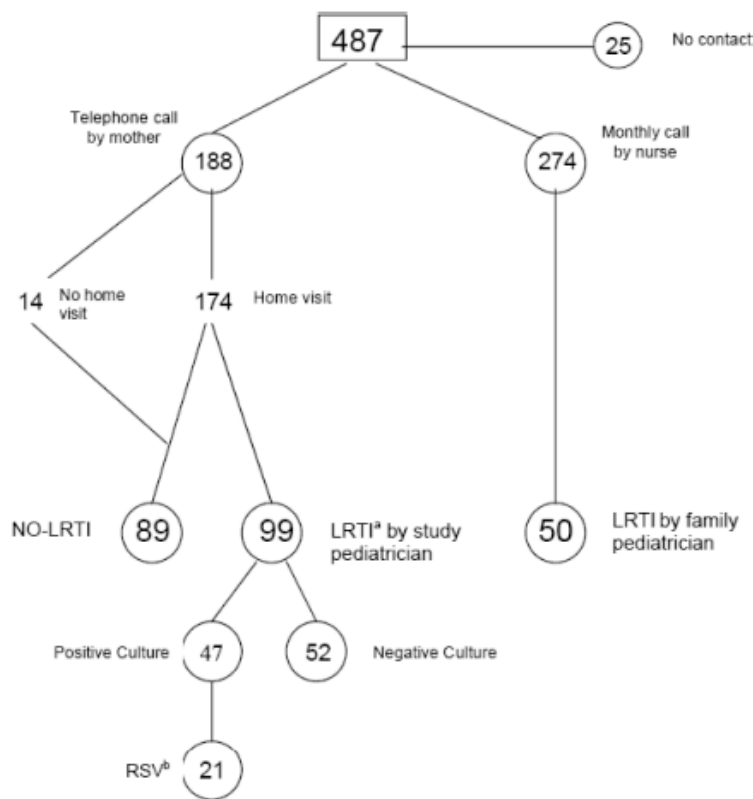


Figure 1 Recruitment and follow-up of infants in the birth cohort. ^aLRTI: lower respiratory tract illnesses; ^bRSV: respiratory syncytial virus.

in the same NPA sample in 4 infants (4.0%). The most commonly detected virus was RSV in 21 infants (44.7%). Adenovirus was detected in seven (14.9%), enterovirus in six (12.8%), influenza A in six (12.8%) and cytomegalovirus in five (10.6%). Other viruses identified in these infants were coronavirus in three (6.4%), parainfluenza in three (6.4%) and influenza B in two (4.3%).

The viral isolation rate in the 136 NPA samples was 50%. The viruses recovered from different respiratory syndromes are shown in Table S1 (in Supplementary material online). Pneumonia and bronchiolitis had a viral isolation rate of approximately 60%, RSV being the most commonly isolated virus. Laryngotracheobronchitis was caused mainly by the parainfluenza virus. Non-specific LRTIs were mainly caused by other viruses.

Respiratory symptoms during the first year of life

When examining the results of the structured telephonic interviews, no significant differences were found in the prevalence of respiratory symptoms reported by the mothers among infants with LRTIs and without LRTIs irrespective of the health professional making the diagnosis.

Determinants of LRTIs

There were no differences between the two groups (LRTI and NO-LRTI) with respect to the maternal age or maternal birth country (see Table S2 in Supplementary material online). LRTIs were less frequent in social classes IV and V, comprising skilled and unskilled occupations. A maternal history of asthma was more frequent in infants with LRTI.

The prevalence of mothers who smoked during pregnancy was very high not only in the NO-LRTI group (50%) but also in the LRTI group (44.2%). Indeed, more than 87% of the total number of infants had cotinine levels in cord blood above 1 ng/mL, suggesting exposure to tobacco smoke during fetal life.

Der p1 and *Fel d1* levels higher than the threshold for sensitization to allergens ($>2 \mu\text{g/g}$ and $>1 \mu\text{g/g}$ of dust, respectively) were less frequent among the LRTI group. No differences between groups were detected in indoor NO_2 levels.

Infants who were breast fed for more than 12 weeks showed a lower frequency of LRTI. The presence of one or more siblings was more frequent in the LRTI group; also, more children in this group attended day care centres compared to the NO-LRTI group; however, in this cohort, the difference did not reach statistical significance.

Multivariate analysis

In the multivariate model (see Table S3 in Supplementary material online), the risk of LRTIs was 2.4 times higher in infants with a maternal history of asthma (OR = 2.44; 95% CI: 0.98–6.08) and was 1.8 times higher (95% CI 1.04–3.21) in infants with siblings. The risk of LRTIs was lower among infants who were breast fed for more than 12 weeks (OR = 0.26; 95% CI: 0.26–0.86) and among those in social classes IV–V (OR = 0.16; 95% CI 0.06–0.42).

DISCUSSION

We present the first study in a Mediterranean area of infant outpatients with a prospective record of LRTIs, which includes an *ad hoc* register and laboratory diagnosis, and a wide record of possible risk factors. Maternal asthma as a risk factor for the development of LRTI in infants was found to be significant, as was the number of siblings. Breast-fed infants and those from a low social class had a lower risk of LRTIs.

LRTIs and viral agents

In our study, 38.7% infants had at least one LRTI during the first year of life while the incidence of LRTIs reported in other community-based longitudinal studies ranges from 20 to 32.9% (1–3). The higher percentage observed in this study may be the result of using both active follow-up of direct diagnosis and self-reporting.

The viral isolation rate in the NPA specimens (50%) was higher than those reported in other community-based studies (26–42.4%) (1,3,16), probably due to immediate specimen collection. However, the rate was lower than those in hospital-based studies (50–66.2%) (17), probably because we had antigen tests only for RSV and coronaviruses and no PCR was available. When both antigen tests and PCR are used, the proportion of virus-positive cases is almost 100%.

Viral agents in the present cohort were identified in almost 60% of bronchiolitis and pneumonia episodes while only 47.1% of bronchitis episodes were positive. Virus-negative illnesses could be caused by other viruses not isolated in this study (i.e. the recently discovered metapneumovirus (18) or rhinoviruses (19) detected by the newer PCR techniques). Since both antigen tests for all respiratory viruses and PCR have been introduced, the proportion of virus identified has notably increased. At the follow-up of our cohort, new data about wheezing illnesses and its risk factors, as RSV, or other virus infections or environmental tobacco smoke exposure will be included.

The association between viral isolates and clinical diagnosis in this study was not statistically significant but the distribution was similar to that in other publications (1,2,20–23).

Determinants of LRTIs

Our finding that a maternal history of asthma was associated with LRTIs in infants is in agreement with data from other birth cohort (24). Over-reporting of asthmatic mothers is not a likely explanation, because the association in the current study was evaluated with medical diagnosis and not symptoms.

Similar to other studies (21) we found that the presence of siblings was a significant risk factor for LRTIs due to increased exposure to viral agents. However, unlike other authors (25), we found no significant differences between infants with LRTIs and NO-LRTIs with respect to the frequency of day care attendance. This may be due to the low attendance at day care before the first year of age in our

population (nearly 20% vs. more than 50% in the above-mentioned study).

Of note, nor household dust mite (*Der p1*) or cat (*Fel d1*) allergens higher than the threshold for sensitization were found to be associated with LRTIs. In contrast, it can be hypothesized that high *Der p1* and *Fel d1* levels were less frequent among the LRTI group due to more frequent cleaning in the houses of these infants, whose families were those with higher SES.

Breast feeding for more than 12 weeks was significantly associated with protection against LRTIs in our study, which is in agreement with other birth cohort studies (26) suggesting that specific nutritional, immunoregulatory and immunomodulatory factors in maternal milk may promote maturation of infant immune competence (27).

Our finding that the prevalence of LRTI was lower in infants with low SES than in those with high SES was unexpected. These results could be explained if families with low SES were less likely to call us and therefore would have diminished the frequency due to misclassification. However, the surveillance project designed a monthly call to reduce this effect. Studies describing the inverse relationship between SES and LRTIs provide limited information because only differences in mortality or hospitalization rates were examined (28). Recently, it has been suggested that the relationship between SES and physical health may not be constant across ages. In a cross-sectional interview about acute respiratory conditions in infants and children aged 0–18, a reverse SES gradient was found in early years (low SES – low frequency of respiratory illnesses), whereas an expected SES gradient appeared during adolescence (low SES – high frequency of respiratory illnesses) (29).

Interestingly, in our study cohort, no association between exposure to tobacco smoke and LRTIs was demonstrated, just the fact that nearly all infants were prenatally and postnatally exposed. Indeed, cord serum cotinine concentrations were higher than those in other European birth cohorts (12,30) and the percentage of self-reported postnatal parental smoke was extremely high.

In conclusion, our study highlights important risk factors such as maternal asthma, the number of siblings and SES for the development of LRTIs in infants from a Mediterranean area.

ACKNOWLEDGEMENTS

The Asthma Multicenter Infants Cohort Study received the following funding: FIS 95/0314, FIS 96/0799, FIS 00/0021, FIS 03/0296, Istituto Superiore di Sanità, CIRIRT-1999SGR 00241, COLT Foundation.

References

- Denny FW, Clyde WA. Acute lower respiratory tract infections in nonhospitalized children. *J Pediatr* 1986; 108: 635–46.
- Wright AL, Taussig LM, Ray CG, Harrison HR, Holberg CJ. The Tucson Children's Respiratory Study: II. Lower respiratory tract illness in the first year of life. *Am J Epidemiol* 1989; 129: 1232–46.
- Forster J, Ihorst G, Rieger CHL, Stephan V, Frank HD, Gurth H, et al. Prospective population-based study of viral lower respiratory tract infections in children under 3 years of age (the PRIDE study). *Eur J Pediatr* 2004; 163: 709–16.
- Ehlken B, Ihorst G, Lippert B, Rohwedder A, Petersen G, Schumacher M, et al. Economic impact of community-acquired and nosocomial lower respiratory tract infections in young children in Germany. *Eur J Pediatr* 2005; 164: 607–15.
- Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B, Bjorksten B. Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics* 1995; 95: 500–5.
- Shaheen SO, Barker DJP, Holgate ST. Do lower respiratory tract infections in early childhood cause chronic obstructive pulmonary disease? *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1649–52.
- Jarti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Koskenvuo M, Ruuskanen O. Persistence of rhinovirus and enterovirus RNA after acute respiratory illness in children. *J Med Virol* 2004; 72: 695–9.
- Lemanske RF Jr, Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Li Z, Shult PA, et al. Rhinovirus illnesses during infancy predict subsequent childhood wheezing. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 571–7.
- Kusel MM, de Klerk NH, Holt PG, Kebadze T, Johnston SL, Sly PD. Role of respiratory viruses in acute upper and lower respiratory tract illness in the first year of life: a birth cohort study. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: 680–6.
- Bosken CH, Hunt WC, Lambert WE, Samet JM. A parental history of asthma is a risk factor for wheezing and nonwheezing respiratory illnesses in infants younger than 18 months of age. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1810–15.
- Lanari M, Giovannini M, Guiffre L, Marini A, Rondini G, Rossi GA, et al. Prevalence of respiratory syncytial virus infection in Italian infants hospitalized for acute lower respiratory tract infections and association between respiratory syncytial virus infection risk factors and disease severity. *Pediatr Pulmonol* 2002; 33: 458–65.
- Pichini S, Basagaña X, Pacifici R, Garcia O, Puig C, Vall O, et al. Cord serum cotinine as a biomarker of foetal exposure to cigarette smoke at the end of pregnancy. *Environ Health Perspect* 2000; 108: 1079–83.
- Basagana X, Torrent M, Atkinson W, Puig C, Barnes M, Vall O, et al. Domestic aeroallergen levels in Barcelona and Menorca (Spain). *Pediatr Allergy Immunol* 2002; 13: 412–7.
- Platts-Mills TAE, Rakes G, Heymann PW. The relevance of allergen exposure to the development of asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: S503–8.
- Yanagisawa Y, Nishimura H. A badge-type personal sampler for measurements of personal exposure to NO₂ and NO in ambient air. *Environment International* 1982; 8: 235–42.
- Lin TY, Huang YC, Ning HC, Tsao KC. Surveillance of respiratory viral infections among pediatric outpatients in northern Taiwan. *J Clin Virology* 2004; 30: 81–5.
- Noyola DE, Rodriguez-Moreno G, Sanchez-Alvarado J, Martinez-Wagner R, Ochoa-Zavala JR. Viral etiology of lower respiratory tract infections in hospitalized children in Mexico. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 118–23.
- Van Den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, De Groot R, Fouchier RAM, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001; 7: 719–24.
- Legg JP, Warner JA, Johnston SL, Warner JO. Frequency of detection of picornaviruses and seven other respiratory pathogens in infants. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 611–6.
- Papadopoulos NG, Moustaki M, Tsolia M, Bossios A, Astra E, Prezerakou A, et al. Association of rhinovirus infection with increased disease severity in acute bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1285–9.

21. Heikkinen T, Marttila J, Salmo AA, Ruuskanen O. Nasal swabs versus nasopharyngeal aspirate for isolation of respiratory viruses. *Clin Microbiol* 2002; 40: 4337–9.
22. Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Österback R, Van Den Hoogen B, Osterhaus A, et al. Respiratory picornaviruses and respiratory syncytial virus as causative agents of acute expiratory wheezing in children. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1095–101.
23. Hemming VG. Vial respiratory disease in children: classification, etiology, epidemiology and risk factors. *J Pediatr* 1994; 124: S13–6.
24. Koopman LP, Smit HA, Heijnen ML, Wijga A, van Strien RT, Kerkhof M, et al. Respiratory infections in infants: interaction of parental allergy, child care and siblings (the PIAMA study). *Pediatrics* 2001; 108: 943–8.
25. Celedon JC, Litonjua AA, Weiss ST, Gold DR. Day care attendance in the first year of life and illnesses of the upper and lower respiratory tract in children with a familial history of atopy. *Pediatrics* 1999; 104: 495–500.
26. Oddy WH, Sly PD, de Klerk NH, Landau Li, Kendall GE, Holt PG, et al. Breast feeding and respiratory morbidity in infancy: a birth cohort study. *Arch Dis Child* 2003; 88: 224–8.
27. Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1238–48.
28. Nascimento-Carvalho CM, Rocha H, Benguigui Y. Effects of socioeconomic status on presentation with acute lower respiratory tract disease in children in Salvador, Northeast Brazil. *Pediatr Pulmonol* 2002; 33: 244–8.
29. Chen E, Martin AD, Matthews KA. Socioeconomic status and health: do gradients differ within childhood and adolescence? *Soc Sci Med* 2006; 62: 2161–70.
30. Pichini S, Pacifici R, Puig C, García-Algar O, Vall O, Sunyer J. Fetal exposure to tobacco smoke is common. *J Epidemiol Community Health* 2001; 55: 936.

Supplementary material

The following supplementary material is available for this article:

Table S1 Viruses detected in 136 nasopharyngeal aspirate samples from 99 infants, according to clinical diagnosis.

Table S2 Distribution (%) of study variables according to the presence or absence of lower respiratory tract illness (LRTI).

Table S3 Multivariate association (odds ratio and 95% CI) of study variables with lower respiratory tract illnesses (LRTI) in comparison with NO-LRTI.

This material is available as part of the online article from: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1651-2227.2008.00939.x>

(This link will take you to the article abstract).

Please note: Blackwell Publishing is not responsible for the content or functionality of any supplementary materials supplied by the authors. Any queries (other than missing material) should be directed to the corresponding author for the article.

(Se adjuntan las tablas que no se encuentran en el artículo impreso, pero que sí están disponibles como parte del artículo *on-line*)

Table S1. Viruses detected in 136 nasopharyngeal aspirate samples from 99 infants, according to clinical diagnosis

Virus detected	Diagnosis				
	Non-specific LRTI^a n (%)	Pneumonia n (%)	Bronchitis n (%)	Bronchiolitis n (%)	LTB n (%)
No virus	8 (50.0)	4 (40.0)	46 (52.9)	7 (41.2)	3 (50.0)
RSV ^c	3 (18.7)	3 (30.0)	17 (19.5)	5 (29.4)	0 (0.0)
Other viruses	5 (31.2)	3 (30.0)	24 (27.6)	5 (29.4)	3 (50.0)
p-value	0.879	0.672	0.486	0.540	0.255
Total with positive identification agent	8 (50.0)	6 (60.0)	41 (47.1)	10 (58.8)	3 (50.0)
Total specimens/episodes	16	10	87	17	6

^aLRTI: lower respiratory tract illnesses

^bLTB: laryngotracheobronchitis

^cRSV: respiratory syncytial virus

Table S2. Distribution (%) of study variables according to the presence or absence of lower respiratory tract illness (LRTI)

	NO-LRTI^a (313)	LRTI^{b,c} (149)
Maternal characteristics:		
Maternal age \geq 29 years	55.59	58.39
Maternal birth country (Spain)	77.64	73.83
Social Class:		
I – II	15.71	24.79
III	61.69	64.46
IV – V	22.61	10.74*
Prenatal maternal smoking (yes)	50.00	44.22
1 - 10 cigarettes	71.56	82.61
\geq 10 cigarettes	28.44	17.39
Maternal specific IgE:		
\leq 0.35	80.10	76.47
0.35 – 0.70	4.97	0.00
\geq 0.70	14.93	23.53
Maternal asthma (yes)	5.77	13.42*
Neonatal characteristics:		
Sex (male)	52.10	56.08
Gestational age < 37 weeks	6.19	11.19
Birth weight:		
\leq 2500 gr.	9.09	7.48
2500 – 4000 gr.	85.06	91.16
\geq 4000 gr.	5.84	1.36
Length \geq 50 cm	48.07	47.73
Cranial perimeter \geq 35 cm	46.64	50.76
Birth weight for gestational age:		
Small (< percentile 10 %)	8.44	8.22
Medium (10 %-75 %)	65.58	70.55
Over (> percentile 75 %)	25.97	21.23
Ponderal Index \geq 2.7 g/cm ³	47.04	39.85
Total IgE in cord blood > 0.35 (UI/ml)	29.85	37.40

Cord serum cotinine (>1 ng/ml):	87.55	88.89
< 1 ng/ml	12.45	11.11
1-50 ng/ml	61.41	69.44
50-100 ng/ml	6.64	6.49
> 100 ng/ml	19.50	12.96

Postnatal characteristics:

Postnatal maternal smoking at year 1 (yes)	45.93	38.52
1 - 10 cigarettes	25.00	26.92
≥ 10 cigarettes	75.00	73.08
Postnatal paternal smoking at year 1 (yes)	52.65	42.54
1 - 10 cigarettes	16.39	16.98
≥ 10 cigarettes	83.61	83.02
Livingroom Der p1 ≥ 2 µg/g	31.51	20.66*
Livingroom Fel d1 ≥ 1 µg/g	24.47	13.22*
NO ₂ ≥ 45 ppb	54.39	51.26
Number of siblings:		
1	33.00	46.31*
> 1	11.33	16.11*
Breast – Feeding duration:		
6 – 12 weeks	5.24	8.20
> 12 weeks	36.68	22.95*
Day care attendance	19.43	20.15

a NO-LRTI: no lower respiratory tract illnesses

b LRTI: lower respiratory tract illnesses

c included both LRTI diagnosed by study pediatrician and family pediatrician

*p-value <0.05 in comparison with NO-LRTI

Table S3. Multivariate association (odds ratio and 95 % CI) of study variables with lower respiratory tract illnesses (LRTI) in comparison with NO-LRTI

	LRTI ^a	
	OR	95 % CI
Mother asthma		
No	1	Reference
Yes	2.44	[0.98, 6.08]
Number of siblings		
0	1	Reference
1	1.83	[1.04, 3.21]*
≥ 1	2.26	[0.99, 5.13]
Breastfeeding duration		
0 – 3 weeks	1	Reference
6 – 12 weeks	1.61	[0.56, 4.58]
>12 weeks	0.47	[0.26, 0.86]*
Social class		
I – II	1	Reference
III	0.57	[0.29, 1.10]
IV – V	0.16	[0.06, 0.42]*

a Includes both LRTI diagnosed by the study pediatrician and family pediatrician

*p-value <0.05

Publicación nº 2: Sunyer J, Puig C, Torrent M, Garcia-Algar O, Calicó I, Muñoz-Ortiz L, Barnes M, Cullinan P; Asthma Multicentre Infants Cohort Study. Nitrogen dioxide is not associated with respiratory infection during the first year of life. *Int J Epidemiol.* 2004 Feb;33(1):116-20. PMID: 15075156.

Resumen

Antecedentes: El dióxido de nitrógeno (NO₂) se ha relacionado con las infecciones respiratorias en estudios experimentales pero su papel continúa siendo controvertido en estudios poblacionales con niños. El objetivo es valorar la asociación entre el NO₂ de los hogares y las infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) en el primer año de vidas en un estudio multicéntrico de cohorte prospectiva.

Métodos: Los niños (n = 1.611) fueron reclutados antes del embarazo para el estudio de cohorte infantil multicentrico sobre asma (AMICS). Las 3 cohortes (Ashford, Kent [UK]; Barcelona y Menorca [España]) siguieron el mismo protocolo de investigación. El NO₂ fue medido con tubos de difusión pasiva situados en los comedores durante 2 semanas, cuando los niños tenían aproximadamente 3 meses de edad. Los diagnósticos de IRVB por un médico durante el primer año de vida (además del uso de antibiótico) fueron recogidos por entrevista, y en Ashford lo validaron con comprobación de las historias clínicas. En Barcelona, se instauró un sistema de seguimiento continuo durante este período y realizó cultivo de muestras de lavado nasofaríngeo.

Resultados: Las tasas acumuladas de IRVB (39 % en Ashford, 28 % en Barcelona y 45 % en Menorca) no estaban relacionadas con los niveles de NO₂ (con las correspondientes medianas 6, 46 y 12 ppb, respectivamente) en ninguno de los centros (todas las *odds ratio* estaban alrededor de 1). En el mismo sentido, las tasas de IRVB en Barcelona determinadas por el registro continuo tampoco no mostró asociación con el NO₂ (todas las *odds ratio* estaban por debajo de 1). Además, tampoco hubo asociación entre la tasa de prescripción de antibióticos por año y niño (5,4 en Ashford, 1,7 en Barcelona y 0,9 en Menorca) y los niveles de NO₂.

Conclusiones: Los niveles actuales de NO₂ en los hogares no parecen estar implicados en el aumento de IRVB en niños, por sí mismo, sugiriendo que los efectos observados en estudios con aire exterior son debidos probablemente a otras sustancias contaminantes.

Nitrogen dioxide is not associated with respiratory infection during the first year of life

Jordi Sunyer,^{1,2} Carme Puig,³ Maties Torrent,⁴ Oscar Garcia-Algar,³ Ignasi Calicó,⁵ Laura Muñoz-Ortiz,¹ Maria Barnes⁶ and Paul Cullinan,⁶ on behalf of the AMICS study*

Accepted 2 October 2003

Background Nitrogen dioxide (NO₂) has been related to respiratory infections in experimental studies but its role remains controversial in general population studies of children. We aim to assess the association between indoor NO₂ and lower respiratory tract infections (LRTI) during the first year of life in a multicentre prospective cohort study.

Methods Children (n = 1611) were recruited prior to birth for the Asthma Multicentre Infants Cohort Study (AMICS). Three concurrent cohorts (Ashford, Kent [UK]; Barcelona city, and Menorca Island [Spain]) followed the same research protocol. NO₂ was measured with passive diffusion tubes placed in the living room for 2 weeks when infants were approximately 3 months old. Doctor-diagnosed LRTI during the first year of life (as well as antibiotic use) were measured by questionnaire, and in Ashford validated by the examination of clinical records. In Barcelona, direct measurements using nasopharyngeal lavage and cultures within a continuous surveillance system were done.

Results The cumulative rates of LRTI (39% in Ashford, 28% in Barcelona, and 45% in Menorca) were unrelated to NO₂ levels (corresponding medians 6, 46, and 12 ppb, respectively) in all three centres (all odds ratios being around 1). Similarly, the rates of LRTI in Barcelona measured with the continuous record showed no association with NO₂ (all rate ratios being below 1). In addition, there was no association between rate of antibiotics courses per year per child (2.4 in Ashford, 1.7 in Barcelona, 0.9 in Menorca) and NO₂ levels.

Conclusions Indoor NO₂ at current levels does not seem to be involved in increasing respiratory infections by itself in infants, suggesting that the effects observed in studies on outdoor air are probably due to other copollutants.

¹ Unitat Recerca Respiratòria i Ambiental, Institut Municipal Investigació Mèdica (IMIM), Barcelona, Catalonia, Spain.

² Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain.

³ Pediatrics Service, Hospital del Mar, Barcelona, Spain.

⁴ Area de Salut de Menorca, INSALUD, Menorca, Spain.

⁵ Microbiological Department, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain.

⁶ Department of Occupational and Environmental Medicine, Imperial College, London, UK.

* Members of the AMICS (Asthma Multicentre Infants Cohort Study) Group: Ashford: Paul Cullinan, Jessica Harris, Warwick Atkinson, Pamela Mills, Susan Moffat, Carol White, Meir Jones, Anthony Newman-Taylor; Barcelona: Goncal Figueras, Oriol Vall, Oscar Garcia, Cecilia Figueras, Carme Puig, Eva Sanchez, Josep M Antó, Jordi Sunyer, Xavier Basagaña, Laura Muñoz-Ortiz; Menorca: Maties Torrent, M Victoria Estraña, Mireia Garcia. The AMICS study is co-ordinated by Maria Barnes.

Correspondence: Jordi Sunyer, IMIM, C/ Dr. Aiguader 80, 08003-Barcelona, Spain. E-mail: jsunyer@imim.es

Nitrogen dioxide (NO₂) is a common air pollutant both in homes and in the urban outdoor atmosphere. It is not highly soluble and most inhaled NO₂ is retained in the small airways. Experimental studies have suggested that NO₂ increases the effect of respiratory pathogens by reducing the efficacy of lung defence mechanisms (due to effects on mucociliary clearance¹ and the alveolar macrophage²), or by activating pro-inflammatory cells.³ The toxicological evidence suggests that NO₂ at the low concentrations found in everyday life may play a role in increasing the incidence and severity of respiratory infections.^{3,4} In epidemiological studies, however, the evidence is controversial. In a follow-up study of a birth cohort in Albuquerque (New Mexico, USA) with a very comprehensive surveillance method to detect respiratory illness during the first year of life, indoor NO₂ measurements were not associated with illness incidence.⁴

However, levels of NO₂ were very low (median around 10 ppb) consistent with the low frequency of cooking with gas stoves in that community. By contrast, in a Dutch birth cohort, upper respiratory tract infections and doctor-diagnosed serious colds were related to NO₂ outdoor levels.⁵ In two German birth cohorts, outdoor NO₂ was associated with cough during the first year of life,⁶ and similarly in a panel study on infants with personal samplers in Finland.⁷ However, NO₂ in outdoor air is mainly generated by traffic and the authors could not differentiate the role of NO₂ from that of fine particles or other traffic pollutants.^{5,6} In indoor environments, NO₂ is strongly related with indoor combustion sources associated with cooking or heating,⁸ and confounding by traffic pollutants is less of a limitation.

We aimed to assess the association between indoor NO₂ and LRTI in a multicentre cohort study of newborn children with a broad range of indoor NO₂ exposures.

Methods

Study population

Birth cohorts were recruited during pregnancy in Ashford (UK), Barcelona and Menorca (Spain) to join the international AMICS study (Asthma Multicentre Infant Cohort Study). All cohorts followed the same basic research protocol. Two of the cohorts (Ashford and Menorca) were population-based (including all women presenting for prenatal care in Ashford during 1995–1996 and in Menorca over 12 months starting in mid 1997). The third cohort was hospital-based (mothers were enrolled during last trimester of pregnancy in the Obstetric Department of the Hospital del Mar in Barcelona during the years 1996–1997. Mothers were city residents without plans to move, literate, and possessed telephones). Among the selected mothers, 615 full-term live children born in Ashford, 487 in Barcelona and 485 in Menorca were enrolled in the cohort. The study was approved by the corresponding research committees and mothers signed a written consent form.

Exposure assessment

During the first 3 months of life a field technician made a home visit to complete a questionnaire on household characteristics (cooking appliances, heating and cooling systems, hours of ventilation, size of house), smoking and occupation, to collect dust samples, and to measure NO₂. Average 2-week NO₂ concentrations were measured by passive diffusion tubes⁹ installed in the living room wall at a height of 2 m and away from any window or air conditioner. NO₂ concentrations were measured in a single laboratory by colorimetric reaction. Social class was defined using the UK Registrar General's 1990 classification of the current paternal occupation.

Respiratory infections

The frequency (and nature) of LRTI during infancy was obtained indirectly in all cohorts using maternal reports of upper and lower respiratory tract symptoms; as well as by systematic scrutiny of general practice medical and prescription records in Ashford. In all three centres, at the end of the first

year, mothers were asked to record, retrospectively, the approximate frequency of symptoms consistent with upper or lower respiratory tract infection. Occurrence of an LRTI was defined as a positive answer to the question 'Has a doctor ever told you that your son/daughter has had a chest infection?'. Information on antibiotic use was gathered using the question 'Has your son/daughter had any antibiotics?' and 'if yes, how many times?'.
 In the Barcelona cohort, mothers were asked to contact a local 24-hour co-ordinating centre if their child should develop, during the first year of life, symptoms of an LRTI: wheezing, wet cough, or troubled breathing for at least one day. A standard symptoms form was then completed and a home visit made at which nasal and throat swabs were collected from the child after examination by a physician. Samples were cultured within the first 6 hours. A system of telephoned monthly reminders to all mothers in this cohort was instituted. Among 487 children, 462 (96%) provided data by the active method or the monthly recall.

Other measurements

Other measurements

At the enrollment mothers completed a questionnaire on previous diseases, allergic and respiratory symptoms, smoking, and occupation. A prick test to common allergens was carried out following standardized methods within AMICS, and classified as positive if it produced a skin wheal ≥ 3 mm (mean of perpendicular measures) in the presence of a positive histamine control and a negative uncoated control.

Data analysis

The cumulative incidence of LRTI during the first year of life was obtained from the one-year questionnaire. Similarly, LRTI data ascertained via the Barcelona surveillance system were treated as cumulative incidence. The association between LRTI and NO₂ levels was measured with the odds ratio (OR), using logistic regression methods. It is assumed that the odds is an approximation of the cumulative incidence. Adjustment, then, could be evaluated using multivariate logistic regression models. Rates of antibiotic prescriptions, as well as incidence rate of LRTI in Barcelona were modelled with Poisson regression. Confounding variables selected were those showing a statistically significant association ($P < 0.1$) with LRTI in our study (i.e. ever breastfeeding, social class, sex, family size, and maternal smoking among a set of variables including parental asthma or atopy).

Results

A description of reported doctor-diagnosed LRTI is shown in Table 1. The cumulative incidence was highest in Menorca while reported antibiotic courses were highest in Ashford. NO₂ levels and gas stove use were highest in Barcelona. Family size was largest in Ashford where social class was unevenly distributed with higher prevalence in both the two extreme categories.

The rate of LRTI and antibiotic courses decreased with increasing levels of NO₂ in Ashford and Barcelona and slightly increased in Menorca, though neither trend was statistically

Table 1 Descriptives (%) by site

	Ashford (n = 642)	Barcelona (n = 487)	Menorca (n = 482)
Indirect assessment of LRTI^a			
Doctor diagnosed LRTI (any)	38.59%	28.39%	45.32%
Rate of antibiotic prescriptions per child per year	2.40	1.74	0.87
Direct assessment of LRTI			
Rate per child per year	–	0.92	–
Parental atopy			
Mother	33.75%	21.93%	36.09%
Both	12.74%	3.36%	10.58%
NO₂^b in ppb^c			
≤5	40.50%	0.21%	18.67%
5–10	38.47%	0.62%	20.33%
10–30	17.60%	9.86%	42.53%
>30	0.78%	61.40%	11.83%
Missing	2.65%	27.93%	6.64%
Percentile 25%	3.64	34.5	5.99
Median (50%)	5.79	45.9	11.86
Percentile 75%	8.85	59.6	21.22
Gas stove			
No	38.47%	2.87%	27.59%
Yes	60.12%	74.13%	72.41%
Missing	1.40%	23.00%	0.00%
Gas heat			
No	14.80%	39.43%	75.31%
Yes	83.49%	33.88%	24.69%
Missing	1.71%	26.69%	0.00%
Female			
	46.49%	47.33%	48.42%
Breastfeeding ever			
	62.31%	79.06%	81.95%
No. siblings >0			
	57.94%	50.32%	50.83%
Maternal smoking			
	19.84%	34.91%	21.38%
Social class^d			
I–II	28.95%	18.61%	16.45%
IIIN	13.68%	21.59%	18.83%
IIIM	34.99%	41.19%	52.38%
IV–V	22.38%	18.61%	12.34%

^a Lower respiratory tract infections.

^b Nitrogen dioxide.

^c Parts per billion.

^d I: Professional; II: Managerial and technical; IIIN: Skilled (non-manual); IIIM: Skilled (manual); IV: Partly skilled; V: Unskilled.

significant (Table 2). Differences according to appliance type were also non-significant, except decreasing antibiotic use among those having a gas stove in Ashford. In Barcelona, the analysis by stove use has no relevance given that only 4% of subjects did not have a gas stove. A lack of association was also

observed with any respiratory symptom (i.e. wheeze, cough, chestiness) reported by parents at age one in the three centres (data not shown). Some of the parents reported infants with wheeze but without a diagnosis of LRTI (17.2% in London, 8.7% in Barcelona, and 3.8% in Menorca). It was not related to NO₂ levels in any of the three centres ($P > 0.5$).

When all centres were pooled, the only positive significant association was between antibiotics and gas heating, though the association disappeared after adjusting for variables related to LRTI, such as social class (Table 3). It is important to note that the measures of association were consistently near to one (i.e. no increased/decreased relative risk) whatever the outcome or the exposure. These findings were homogeneous among the three centres (P for heterogeneity = 0.7). Stratification by maternal atopy did not show any effect modification (P for interaction = 0.8). When NO₂ was treated as a continuous variable (logarithmically transformed) results were very similar.

The incidence of LRTI assessed by the surveillance system in Barcelona was not associated with NO₂ or the use of gas appliances either in the crude or the adjusted models (Table 4). Limiting LRTI to a positive culture from a nasal swab did not change these results.

Discussion

At high concentrations in animals and humans, NO₂ damages the epithelial cells by oxidant injury, reduces the clearance of infecting organisms, depresses alveolar macrophages, and releases pro-inflammatory mediators.¹⁰ However, we did not find any association of indoor NO₂ with any of the different indicators of LRTI in three birth cohorts of infants using individual passive samplers for measuring NO₂. These results confirm the findings observed by Samet *et al.*⁴ in a previous large birth cohort with lower indoor levels, and the discrepancies between experiments and results with general populations in current environments.¹¹ Smaller studies also using individual measurement of indoor NO₂ among infants, a cross-sectional study in the UK,¹² and a Norwegian case-control study¹³ also did not find any relation with respiratory symptoms. A different issue arises from studies measuring outdoor NO₂. Both a recent Dutch birth cohort⁵ and German birth cohorts⁶ showed an association with outdoor NO₂ measurements, which has also been observed in studies at school age.^{14,15} Similarly, in the Swiss study, SAPALDIA, the duration of lower respiratory symptoms in children under 5 years of age was related to an individual outdoor measurement, but not with indoor levels.¹⁶ The data presented here, however, suggest that the NO₂ effects on respiratory infections in outdoor air at current levels are probably due to other pollutants that have the same source and environmental dynamics as NO₂, since NO₂ measured with indoor samplers (even at high concentrations such as in Barcelona) was unrelated to LRTI in infants.

Misclassification of the outcome is unlikely to explain this lack of association, given the efforts made to ensure the quality of the diagnosis, in Ashford by checking the maternal reports with family practitioner clinical records, and in Barcelona by using a surveillance system and a direct method of evaluation of

Table 2 Distribution of lower respiratory tract infections (LRTI) during first year of life and rate of antibiotics prescription courses according to nitrogen dioxide (NO₂) levels, gas appliances, and site

	Ashford			Barcelona			Menorca		
	n	LRTI (%)	Antibiotics	n	LRTI (%)	Antibiotics	n	LRTI (%)	Antibiotics
			(antib/year)			(antib/year)			(antib/year)
NO₂ (city-specific percentile)^a									
≤25%	156	41.94	2.61	89	25.97	1.79	112	42.39	0.85
25–50%	156	37.50	2.33	86	30.77	2.06	113	39.80	0.74
50–75%	157	39.22	2.31	89	32.88	1.51	113	47.92	0.85
≥75%	156	36.13	2.28	87	21.05	1.43	112	49.51	1.09
Gas stove									
No	247	42.15	2.56	14	8.33	1.08	133	44.74	0.92
Yes	386	36.32	2.29*	361	28.75	1.68	349	45.54	0.84
Gas heat									
No	95	39.13	2.36	192	29.63	1.65	363	45.60	0.82
Yes	536	38.45	2.40	165	26.71	1.79	119	44.44	1.00

^a Quartiles defined in Table 1.

* P-value < 0.05.

Table 3 Adjusted association between lower respiratory tract infections (LRTI) during first year of life and rate of antibiotic prescription per child and nitrogen dioxide (NO₂) and gas appliances

	LRTI				Rate of antibiotics			
	Crude		Adjusted ^a		Crude		Adjusted ^a	
	Odds ratio	(95% CI)	Odds ratio	(95% CI)	Rate ratio	(95% CI)	Rate ratio	(95% CI)
NO₂								
≤5	1		1		1		1	
5–10	0.92	(0.67, 1.26)	0.88	(0.63, 1.23)	0.95	(0.86, 1.06)	0.97	(0.87, 1.09)
10–30	0.99	(0.73, 1.36)	0.99	(0.69, 1.43)	0.70*	(0.62, 0.78)	0.94	(0.82, 1.07)
>30	0.69*	(0.50, 0.95)	1.31	(0.75, 2.26)	0.76*	(0.68, 0.86)	0.95	(0.77, 1.19)
Gas stove								
No	1		1		1		1	
Yes	0.81	(0.63, 1.03)	0.91	(0.69, 1.20)	0.83*	(0.76, 0.90)	0.92	(0.83, 1.01)
Gas heat								
No	1		1		1		1	
Yes	0.88	(0.70, 1.10)	1.01	(0.75, 1.36)	1.64*	(1.50, 1.78)	1.08	(0.97, 1.20)

^a Adjusted for site, sex, family size, breastfeeding, maternal smoking, social class, and season.

* P-value < 0.05.

LRTI. Similarly no association was found with antibiotic use which may be an indicator of LRTI. However, the number of antibiotic courses is strongly related to social class and may indicate medical contact rather than actual LRTI or also other infections such as upper respiratory tract infections. Furthermore, no association was observed with any respiratory symptom at age one. Only data on the first year were examined, given that most incident cases occur in this period and further ascertainment is more complex. During this period, however, protection by breastfeeding should be taken into account. When we adjusted for length of breastfeeding (with a median length of 8 weeks among the 73% having breastfed) the results did not change.

Another potential bias could be a misclassification of exposure given that samples were collected only once. However, the results were very consistent with the use of gas appliances and a sub-analysis including only children home-bound throughout most of the year did not modify any of the results. In addition, indoor NO₂ levels in this study have been strongly related to the type of gas appliance (i.e. higher levels with gas stove and heating)⁸ suggesting that the measurement error, if it exists, is small.

Overall, indoor NO₂ at current levels does not seem to be involved in increasing respiratory infections by itself in infants, suggesting that the effects observed in studies on outdoor air are probably due to other pollutants.

Table 4 Incidence rate of lower respiratory tract infections (LRTI) per child during first year of life using a surveillance method of detection in Barcelona according to nitrogen dioxide (NO₂) quartiles and having gas appliances

	Incidence rate LRTI	Crude rate ratio	(95% CI)	Adjusted rate ratio ^a	(95% CI)
NO₂					
≤34.5	1.03	1		1	
34.5–45.9	0.99	0.96	(0.71, 1.28)	1.07	(0.77, 1.48)
45.9–59.6	0.90	0.87	(0.64, 1.17)	0.95	(0.68, 1.34)
>59.6	0.93	0.90	(0.67, 1.21)	0.96	(0.69, 1.34)
Gas stove					
No	0.86	1		1	
Yes	0.94	1.10	(0.62, 1.96)	1.24	(0.69, 2.22)
Gas heat					
No	1.01	1		1	
Yes	0.91	0.90	(0.73, 1.11)	0.90	(0.71, 1.15)

^a Adjusted for sex, family size, breastfeeding, maternal smoking, social class, and season.

References

- Penington JE. Effects of automotive emissions on susceptibility to respiratory infections. In: Watson AY, Bates RR, Kennedy D (eds). *Air Pollution, the Automobile and Public Health*. Health Effects Institute. Washington, DC: National Academy Press, 1988, pp. 499–518.
- Morrow PE. Toxicological data on NO₂: an overview. *J Toxicol Environ Health* 1984;13:205–27.
- Spannhake EW, Reddy SPM, Jacoby DB, Yu X, Saatian B, Tian J. Synergism between rhinovirus infection and oxidant pollutant exposure enhances airway epithelial cell cytokine production. *Environ Health Perspect* 2002;110:665–70.
- Samet JM, Lambert E, Skipper BJ *et al.* Nitrogen dioxide and respiratory illnesses in infants. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1258–65.
- Brauer M, Hoek G, Van Vliet P *et al.* Air pollution from traffic and the development of respiratory infections and asthmatic and allergic symptoms in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:1092–98.
- Gerhing U, Cyris J, Sedlmeir G *et al.* Traffic-related pollution and respiratory health during the first 2 years of life. *Eur Respir J* 2002;19:690–98.
- Mukala K, Alm S, Tiitonen P, Salonen RO, Jantunen M, Pekkanen J. Nitrogen dioxide exposure assessment and cough among preschool children. *Arch Environ Health* 2000;55:431–38.
- García-Algar O, Pichini S, Basagaña X *et al.* on behalf of the AMICS group. Concentrations and determinants of NO₂ in homes of United Kingdom and Spain. *J Air Waste Manage Assoc* 2003;53:(in press).
- Yanagisawa Y, Nishimura H. A badge-type personal sampler for measurement of personal exposure to NO₂ and NO in ambient air. *Environ Int* 1982;8:235–42.
- American Thoracic Society. Committee of the environmental and occupational health assembly. Health effects of outdoor pollution. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:477–84.
- Samet JM, Utell MJ. The risk of nitrogen dioxide: what have we learned from epidemiological and clinical studies? *Toxicol Industrial Health* 1990;6:247–62.
- Farrow A, Greenwood R, Preece S, Golding J. Nitrogen dioxide, the oxides of nitrogen and infants' health symptoms. *Arch Environ Health* 1997;52:189–94.
- Magnus P, Nafstad P, Oie L *et al.* Exposure to nitrogen dioxide and the occurrence of bronchial obstruction in children below 2 years. *Int J Epidemiol* 1998;27:995–99.
- Van Vliet P, Knape M, de Hartog J, Janssen N, Harseema H, Brunekreef B. Motor vehicle exhaust and chronic respiratory symptoms in children living near freeways. *Environ Res* 1997;74:122–32.
- Shima M, Adachi M. Effect of outdoor and indoor nitrogen dioxide on respiratory symptoms in schoolchildren. *Int J Epidemiol* 2000;29:862–70.
- Braun-Fahrlander C, Ackerman-Lievrich U, Schwart J, Gnehm HP, Rutishauser M, Wanner HU. Air pollution and respiratory symptoms in preschool children. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:42–47.

Publicación nº 3: García-Algar O O, Puig C, Calicó I, Cortés A, Vall O. Prevalencia de *Chlamydia pneumoniae* en infecciones respiratorias de vías bajas en niños menores de 2 años. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2001 Nov;19(9):451-2. PMID: 11709128.

(Carta al director).

mielorradiculitis, etc.) son tan infrecuentes que suelen ser motivo de publicación^{7,8}.

Finalmente, como consideración práctica, queremos destacar que ante un proceso agudo febril prolongado en un inmunocompetente en el que se sospeche una infección vírica, si la serología frente a diferentes microorganismos, incluida la IgM e IgG a CMV, resulta negativa es aconsejable, además de repetir las serologías, realizar un cultivo para CMV en sangre y en orina (convencional y con técnica de centrifugación-cultivo de shell vial) antes de continuar con otras pruebas complementarias. Cuando la IgM a CMV sea positiva en un contexto clínico compatible con una infección aguda vírica no será necesario practicar estos cultivos. Sin embargo, en los pocos casos en los que la IgM a CMV sea positiva pero el cuadro clínico no sea totalmente compatible con una infección aguda por CMV o sea más compatible con otros procesos es recomendable pedir los cultivos víricos como método de confirmación.

Josu Baraia-Etxaburu, Ainhoa Burzako, Manuel Imaz^a, Fernando Ugalde^b, Ramón Teira, Ramón Cisterna^a y Juan Miguel Santamaría
Servicios de Enfermedades Infecciosas
^aMicrobiología y ^bUrgencias. Hospital de Basurto, Bilbao.

Bibliografía

1. Ho M. Cytomegalovirus. En: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious disease. New York: Churchill Livingstone Inc., 1995: 1.351-1.364.
2. Faucher JF, Abraham B, Segondy M, Jouquet O, Reynes J, Janbon F. Acquired cytomegalovirus infections in immunocompetent adults: 116 cases. *Presse Med* 1998; 27: 1.774-1.779.
3. Coll I, Sánchez C, Sierra M, Lite J, Garau J. Mononucleosis espontánea por citomegalovirus en el adulto inmunocompetente. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995; 13: 224-228.
4. Calico I, Juvé R, Rodríguez C, Moraga FA, Arcalís L. Aislamiento de citomegalovirus. *Med Clin (Barc)* 1983; 81: 333-337.
5. Mintz L, Drew L, Miner R, Braff E. Cytomegalovirus infections in homosexual men. *Ann Intern Med* 1983; 99: 326-329.
6. Aalto SM, Linnavouri K, Peltola H, Vuori E. Immunoreactivation of Epstein-Barr virus due to cytomegalovirus infection. *J Med Virol* 1998; 56: 186-191.
7. Fernández T, Falco V, Alegre J, Pahissa A, Calico I, Martínez JM. Pericarditis aguda por citomegalovirus. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1988; 6: 276-277.
8. Eddleston M. Severe cytomegalovirus diseases in immunocompetent patients. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 52-56.

Prevalencia de *Chlamydia pneumoniae* en infecciones respiratorias de vías bajas en niños menores de 2 años

Sr. Director. *Chlamydia pneumoniae*, anteriormente llamada *C. psittaci* TWAR, fue definida como la tercera especie del género *Chlamydia* en 1989¹ pero ya se había identificado como agente etiológico de infecciones respiratorias en humanos en 1985². Desde entonces ha estado implicada como agente causal en infecciones agudas y persistentes de las vías respiratorias altas y bajas, exceptuando la amigdalitis, y sobre todo en adultos y niños mayores de 5 años de edad.

El propósito del estudio es conocer la prevalencia de *C. pneumoniae* como agente causal de infecciones respiratorias de vías bajas y como desencadenante de las reagudizaciones del asma en los niños menores de 2 años de edad.

Cincuenta niños dentro de una cohorte de 592, reclutados por el servicio de Pediatría del Hospital del Mar, en Barcelona, para integrar el estudio multicéntrico Asthma Multi-center Infant Cohort Study (AMICS) cuyo objetivo es examinar los efectos de la exposición ambiental pre y postnatal en los inicios del asma y la atopia, fueron seguidos prospectivamente desde el nacimiento y hasta los 24 meses de edad.

Los padres (previamente entrenados) establecían contacto telefónico con el personal investigador ante cualquier sintomatología respiratoria sugestiva de afectar las vías respiratorias inferiores. Uno de los investigadores acudía al domicilio en las primeras 24 horas para: realización de exploración clínica para confirmar el cuadro clínico de infección respiratoria de vías bajas o asma y recogida de la muestra de moco nasal.

Las muestras fueron recogidas con una técnica estandarizada: instilación de 2 ml de suero fisiológico e inmediata aspiración mediante sonda nasal y jeringa. Las muestras eran conservadas a 4 °C hasta ser enviadas al laboratorio. El tiempo entre la recogida de la muestra y su llegada al laboratorio fue de 4 a 8 horas.

En los aspirados nasofaríngeos se realizó una técnica de inmunofluorescencia directa comercializada (*Chlamydia pneumoniae* FITC Research Reagent-DAKO Diagnostic, Cambridgeshire, England) de uso rutinario en el laboratorio y con controles positivos y negativos.

Se obtuvieron y analizaron 76 muestras de moco nasal: 60 correspondieron a episodios de infecciones respiratorias de vías bajas diagnosti-

cados según los criterios de Chapel Hill (catarro de vías altas con componente bronquial [40 casos], laringotraqueobronquitis [5 casos], bronquiolitis [9 casos] y neumonía [4 casos]) y 16 a episodios de asma.

Todas las muestras, tanto las procedentes de procesos infecciosos como las de episodios de asma, resultaron negativas para *C. pneumoniae*.

C. pneumoniae está relacionada con infecciones de las vías respiratorias superiores e inferiores, y la mayoría de las infecciones agudas son recurrentes. Un número importante de ellas son asintomáticas como muestra la alta seroprevalencia en adultos.

Aunque existe algún trabajo que considera que *C. pneumoniae* es un hallazgo frecuente en los niños con infecciones respiratorias³, la mayoría de los estudios publicados concluye que no parece ser un patógeno importante como causa de infecciones respiratorias bajas en los lactantes (incluyendo bronquiolitis)⁴, en los niños menores de 2 años^{5,6} y en general en los niños menores de 5 años⁴. Otros trabajos sugieren que la detección de marcadores de infección por *C. pneumoniae* en niños menores de 5 años sanos es excepcional e indica probablemente la presencia de infecciones subclínicas o el hecho de que sean portadores sanos⁷.

Cuando se han analizado muestras de aspirado nasofaríngeo de pacientes mayores de 2 años con asma apenas se han obtenido resultados positivos para *C. pneumoniae*⁸. Aunque algunos autores concluyen que la infección puede desencadenar episodios agudos de sibilancias en niños con asma, esta asociación sólo se da en niños mayores de 5 años de edad⁹.

En este estudio *C. pneumoniae* es una causa infrecuente de infecciones respiratorias de vías bajas y de reagudizaciones del asma en niños menores de 2 años en nuestro medio. Al tratarse de un estudio prospectivo de seguimiento durante 2 años, los datos obtenidos tienen gran valor en cuanto a la epidemiología de la infección por *C. pneumoniae* y nos permitirán completar la evolución de los marcadores de la infección en este grupo de la cohorte, con determinaciones serológicas en las muestras de suero que se conservan en comparación con las que se obtendrán a los 6 años de edad, al finalizar la primera fase del estudio global AMICS.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS 95/0314 y 96/0799).

Óscar García-Algar^a, Carme Puig^a,
Ignasi Calicó^b, Albert Cortés^b, Oriol
Vall^a

^aServicio de Pediatría, Hospital del Mar.

^bServicio de Virología, Hospitals Vall
d'Hebron, Barcelona.

Bibliografía

1. Grayston JT, Campbell LA, Kuo CC, Mordhorst CH, Saikku P, Thom DH, Wang SP. A new respiratory pathogen: *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *J Infect Dis* 1990; 161: 618-625.
2. Saikku P, Wang SP, Kleemola M, Brander R, Rutasen E, Grayston JT. An epidemic of mild pneumonia due to an unusual strain of *Chlamydia psittaci*. *J Infect Dis* 1985; 151: 832-839.
3. Normann E, Gnärpe J, Gnärpe H, Wettergren B. *Chlamydia pneumoniae* in children with acute respiratory tract infections. *Acta Paediatr* 1998; 87: 23-27.
4. Falck G, Gnärpe J, Gnärpe H. Prevalence of *Chlamydia pneumoniae* in healthy children and in children with respiratory tract infections. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 549-554.
5. Yeung SM, McLeod K, Wang SP, Grayston JT, Wang EE. Lack of evidence of *Chlamydia pneumoniae* infection in infants with acute lower respiratory tract disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 850-853.
6. Montes M, Cilla G, Alcorta M, Perez-Trallero E. High prevalence of *Chlamydia pneumoniae* infection in children and young adults. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 972-973.
7. Lund-Osten I, Lundback A, Gnärpe J, Gnärpe H. Prevalence of specific antibodies to *Chlamydia pneumoniae* in children with acute respiratory infections. *Acta Paediatr* 1994; 83: 1.143-1.145.
8. Ursi D, Ieven M, Van Bever HP, Goossens H. Construction of an internal control for the detection of *Chlamydia pneumoniae* by PCR. *Mol Cell Probes* 1998; 12: 235-238.
9. Cunningham AF, Johnston SL, Jullous SA, Lampe FC, Ward ME. Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection and asthma exacerbations in children. *Eur Respir J* 1998; 11: 345-349.

Nódulo pulmonar solitario producido por *Brucella melitensis*

Sr. Director. La brucelosis continúa siendo un importante problema de salud en ciertas áreas geográficas, como la cuenca mediterránea^{1,2}. A pesar de que la enfermedad puede adquirirse a través de la vía respiratoria, la afección pulmonar es una complicación extremadamente rara en esta infección^{1,2}. Existen pocos casos descritos en la literatura médica de alteraciones radiográficas en la pleura o en el pulmón en la brucelosis¹⁻⁶. Informamos el caso de un paciente con nódulo pulmonar solitario calcificado causado por *Brucella melitensis*. En nuestro conocimiento, ésta es la primera vez que *B. melitensis* es aislada de esta lesión pulmonar.

Se trata de un hombre de 59 años que ingresa en el hospital debido a la presencia de una lesión pulmonar bien definida, de 3 cm de diámetro, en el campo pulmonar medio izquierdo, descubierto en una radiografía de rutina. Había sido un fumador importante durante algunos años, habiendo sido diagnosticado de brucelosis aguda 20 años antes. Al ingreso, el paciente no mostraba síntomas y en el examen físico no hubo hallazgos significativos.

La hemoglobina fue de 14 g/dl, los leucocitos fueron 7.100/mm³ y las plaquetas 340.000/mm³. En la tomografía axial computarizada torácica realizada se observó la presencia de una lesión nodular situada en lóbulo inferior del pulmón izquierdo, contigua a la pleura y calcificada (fig. 1). No se observaron adenopatías hiliares ni mediastínicas. Durante la intervención, el nódulo pulmonar en contacto con la pleura visceral fue reseado. El examen histológico del tejido escindido mostró la existencia de granulomas con áreas calcificadas. El estudio microbiológico se realizó siguiendo pautas habituales para bacterias, micobacterias y hongos. En las tinciones de Gram, Giemsa y Ziehl-Neelsen no se observaron microorganismos. Tras 5 días de incubación en agar sangre y chocolate, se observó crecimiento de colonias mucosas, blanquecinas, de bordes enteros y de unos 2 mm de diámetro, catalasa y oxidasa positivas. El microorganismo fue identificado como *B. melitensis* mediante aglutinación en porta con *B. melitensis* antiserum (Difco laboratories, Ltd), no aglutinando a los antiseros del resto de especies patógenas. En el postoperatorio, el rosa de Bengala y prueba de aglutinación a *Brucella* resultaron negativos, y la de Coombs-antibrucella fue positiva a título 1: 2.560. Hubo recuperación total del paciente y fue

tratado con doxicilina y rifampicina durante 6 semanas.

Este caso muestra una causa verdaderamente infrecuente de nódulo pulmonar solitario. Sin embargo, la brucelosis pulmonar debe considerarse en el diagnóstico diferencial de lesiones pulmonares en los habitantes de áreas endémicas, o en aquellos que viajan a dichas zonas. Las alteraciones radiográficas descritas en la brucelosis pulmonar incluyen consolidación pulmonar, patrón miliar, nódulos parenquimatosos, adenopatías hiliares o paratraqueales, derrame pleural y neumotórax^{1,6}.

El diagnóstico de certeza de brucelosis se realiza por aislamiento del microorganismo de la sangre y de otros fluidos orgánicos. En caso de afección pulmonar brucelar, *Brucella* spp. se ha aislado de esputo⁶, sangre^{2,4} y líquido pleural^{1,2,5}. Además, algunos años atrás, Weed et al informaron del aislamiento de *B. suis* de tejido pulmonar en tres ocasiones³. Estos tres pacientes tenían lesiones pulmonares nodulares descubiertas por examen radiográfico en el tórax, que fueron intervenidas debido a la sospecha de malignidad. En ausencia de confirmación bacteriológica, las pruebas serológicas pueden servir para realizar el diagnóstico presuntivo de brucelosis pulmonar⁵. A pesar del número de técnicas que han sido desarrolladas para determinación de anticuerpos antibrucella, la más comúnmente usada es la prueba de aglutinación en suero¹⁻⁶. Nuestro paciente mostró un resultado negativo de esta prueba, aunque la de Coombs antibrucella fue positiva. Esta técnica puede ser utilizada en estos casos como screening. La cuestión que se plantea es si debe emplearse tratamiento antibiótico específico tras la resección de un nódulo pulmonar brucelar solitario³. Unos mantie-



Figura 1. Tomografía axial computarizada torácica que muestra un nódulo de 3 cm de diámetro contiguo a la pleura. Se puede apreciar calcificación dentro de este nódulo.

11. Bibliografía

-
- ¹ Castro-Rodriguez JA, Garcia-Marcos L. Wheezing and Asthma in childhood: an epidemiology approach. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2008 Sep-Oct;36(5):280-90.
- ² Warner JO, Naspitz CK. Third International Pediatric Consensus Statement on the management of childhood asthma. International Pediatric Asthma Consensus Group. *Pediatr Pulmunol*. 1998;25:1-17.
- ³ Jablonski S. Syndrome: le mot de jour. *Am J Med Genet*.1991;39:342-6.
- ⁴ Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life: relation with lung function, total serum IgE levels, and skin test reactivity to allergens. *N Engl J Med*. 1995;332:133-138.
- ⁵ McKenzie S. Clinical features and their assessment. In: Silverman M (ed.). *Childhood asthma and other wheezing disorders*. London: Chapman & Hall Medical. 1995.
- ⁶ Silverman M, Wilson NM. Wheezing disorders in children. In: Silverman M (ed.). *Childhood asthma and other wheezing disorders*. London: Chapman & Hall Medical. 1995.
- ⁷ Rusconi F, Gallassi C, Corbo GM y col. Risk factors for early, persistent and late-onset wheezing in young children. *Am J Respir Care Med* 1999;160:1617-22.
- ⁸ Sherriff A, Peters TJ, Henderson J, Strachan D and the ALSPAC Study Team. Risk factor associations with wheezing patterns in children followed longitudinally from birth to 3 ½ years. *Int J Epidemiol* 2001;30:1473-84.
- ⁹ Henderson J, Granell R, Sterne J. The search for new asthma phenotypes. *Arch Dis Child*. 2009;94:333-6.
- ¹⁰ Brand PL, Baraldi E, Bisgaard H, Boner AL, Castro-Rodriguez JA, Custovic A, et al. Definition, assessment and treatment of wheezing disorders in preschool children: an evidence-based approach. *Eur Respir J*. 2008;32:1096-110.
- ¹¹ Saglani S, Bush A. Asthma in preschool children: the next challenge. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 1009;9:141-5.
- ¹² Midodzi WK, Rowe BH, Majaesic CM, Saunders LD, Senthilselvan A. Predictors for wheezing phenotypes in the first decade of life. *Respirology*. 2008;13:537-45.
- ¹³ Nieto A. Fenotipos, genotipos y tratamiento del asma. *An Pediatr (Barc)*. 2008;69:293-6.
- ¹⁴ Pérez EG, Sardon O, Korta J. Sibilancias recurrentes en menores de tres años: evidencias y oportunidades. *An Pediatr (Barc)*. 2008;69:369-82.
- ¹⁵ Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH, Eigenmann PA, Frischer T, Gotz M et al. Diagnosis and treatment of asthma in children: A PRACTALL consensus report. *Allergy* 2008;63:5-34.
- ¹⁶ Murray CS, Poletti G, Keadze T, Morris J, Woodcock A, Johnston SL, et al. Study of modifiable risk factors for asthma exacerbations: virus infection and allergen exposure increase the risk of asthma hospital admissions in children. *Thorax* 2006;61:376-82.
- ¹⁷ Tantisira KG, Lake S, Silverman ES, Palmer Lj, Lazarus R, Silverman EK, et al. corticosteroid pharmacogenetics: Association of sequence variants in CRHR1 with improved lung function in asthmatics treated with inhaled corticosteroids. *Hum Mol Genet*. 2004;13:1353-9.

-
- ¹⁸ Simpson A, John SL, Jury F, Niven R, Woodcock A, Ollier WE, et al. Endotoxin exposure, CD14, and allergic disease: an interaction between genes and the environment. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:386-92.
- ¹⁹ Martinez FD: Development of wheezing disorders and asthma in preschool children. *Pediatrics* 2002; 109 Suppl 2:362-7.
- ²⁰ Stein RT, Martinez FD. Asthma phenotypes in childhood: lessons from an epidemiological approach. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2004;5:155-61.
- ²¹ Spycher BD, Silverman M, Brooke AM, Minder CE, Kuehni CE. Distinguishing phenotypes of childhood wheeze and cough using latent class analysis. *Eur Respir J* 2008;31:974-81.
- ²² Lau S, Illi S, Sommerfeld C, Niggeremann B, Volkel K, Madloch C, et al. Transient early wheeze is not associated with impaired lung function in 7-yr-old children. Multicentre Allergy Study Group. *Eur Respir J* 2003 ;21:834-41.
- ²³ Johnson CC, Owby DR, Zoratti EM, Alford SH, Williams LK, Joseph CLM. Environmental epidemiology of pediatric asthma and allergy. *Epidemiol Rev*. 2002;24:154-75.
- ²⁴ Castro-Rodriguez JA, Holberg CL, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1403-6.
- ²⁵ Guilber TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Bacharier LB, Boehmer SJ, Krawiec M et al. Atopic characteristics of children with recurrent wheezing at high risk for the development of childhood asthma. *J allergy Clin Immunol* 2004;114:1282-7.
- ²⁶ Piippo-Savolainen E, Korppi M. Wheezy babies-wheezy adults? Review on long-term outcome until adulthood after early childhood wheezing. *Acta Paediatr* 2008;97:5-11.
- ²⁷ Ober C, Hoffjan S. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes Immun* 2006;7:95-100.
- ²⁸ The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 1998;351:1225-32.
- ²⁹ Flynn MGL. Respiratory symptoms of rural Fijian and Indian children in Fiji. *Thorax* 1994;49:1201-4.
- ³⁰ Von Mutius E, Martinez FD, Fritsch C, Nicolai T, Rosell G, Thiemann HH. Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:358-64.
- ³¹ Diaz CA, Carvajal I, Dominguez B, Mora I, Morell JJ. Historia natural del asma. Determinantes del asma. Asma en el niño y adolescente. 2ª Ed. Editores: Cano A, Diaz CA, Monton, JL y Grupo de vías respiratorias de la AEPap. ERGON. 2004.
- ³² Carvajal I, Garcia-Marcos L, Busquets R, Morales M, Garcia de Andoni N, Batlles J. Variaciones geográficas en la prevalencia de síntomas de asma en los niños y adolescentes españoles. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) fase III España. *Arch Bronconeumol*. 2005;41:659-66.
- ³³ Wright AL, Holberg CJ, Martinez FD, Morgan WJ, Taussig LM. Breast feeding and lower respiratory tract illness in the first year of life. *BMJ* 1989;299:94 6-9.

-
- ³⁴ Duff AL, Pomeranz ES, Gelber LE, et al. Risk factors for acute wheezing in infants and children: viruses, passive smoke and IgE antibodies to inhalant allergens. *Pediatrics* 1993;92:535-40.
- ³⁵ Cypcar D, Strak J, Lemanske RF. The impact of respiratory infections on asthma. *Pediatrics Clinics of North America*. 1992;39:1259-76.
- ³⁶ Wright AL, Taussig LM, Ray CG, Harrison HR, Holberg CJ. The Tucson Children's Respiratory tract illness in the first year of life. *Am J Epidemiol* 1989;129:1232-46.
- ³⁷ Forster J, Ihorst G, Rieger CHL, Stephan V, Frank HD, Gurth H y col. Prospective population-based study of viral lower respiratory tract infections in children under 3 years of age (the PRIDE study). *Eur J Pediatr* 2004;163:709-16.
- ³⁸ Ehlken B, Ihorst G, Lippert B, Rhowedder A, Petersen G, Schumacher M y col. Economic impact of community-acquired and nosocomial lower respiratory tract infections in young children in Germany. *Eur J Pediatr* 2005;164:607-15.
- ³⁹ Shaheen SO, Barker DJP, Holgate ST. Do lower respiratory tract infections in early childhood cause chronic obstructive pulmonary disease? *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1649-52.
- ⁴⁰ Landau LI. Bronchiolitis and asthma: are they related? *Thorax* 1994;49:293-6.
- ⁴¹ Shay DK, Holman RC, Newman RD, et al. Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1996. *JAMA* 1999;282:1440-6.
- ⁴² Reijonen TM, Kotaniemi-Syrjanen K et al. Predictors of asthma three years after hospital admission for wheezing in infancy. *Pediatrics* 2000;106:1406-12.
- ⁴³ Tyrrell DAJ, Peto M, King N. Serological studies on infections by respiratory viruses of the inhabitants Tristan da Cunha. *J Hyg* 1967;65:327-41.
- ⁴⁴ Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299: 1259-60.
- ⁴⁵ Romagnani S. Human Th1 and Th2 subsets: regulation of differentiation and role in protection and immunopathology. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992;98:279-85.
- ⁴⁶ Holt PG. Infections and the development of allergy. *Toxicol Lett*. 1996;86:205-210.
- ⁴⁷ Illi S, von Mutius E, Lau S, Bergmann R, Niggemann B, Sommerfeld C, Wahn U; MAS Group. Early childhood infectious diseases and the development of asthma up to school age: a birth cohort study. *BMJ* 2001;322:390-5.
- ⁴⁸ Sly PD, Hibbert ME. Childhood asthma following hospitalization with acute viral bronchiolitis in infancy. *Pediatr Pulmonol* 1989;7(3):153-8.
- ⁴⁹ Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B, Björkstén B. Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics* 1995;95:500-5.
- ⁵⁰ Stein ST, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM, y col. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy at age 13 years. *Lancet* 1999;354:541-5.
- ⁵¹ Nafstad P, Magnus P, Jaakkola JJ. Early respiratory infections and childhood asthma. *Pediatrics* 2000;106:E38.
- ⁵² Papadopoulos NG, Bates PJ, Bardin PG y col. Rhinoviruses infect the lower airways. *J Infect Dis* 2000;181:1875-84.

-
- ⁵³ Puig C, Sunyer J, Garcia O, Muñoz L, Pacifici R, Pichini S, Vall O. Incidence and risk factors of lower respiratory tract illnesses during infancy in a Mediterranean birth cohort. *Acta Paediatrica* 2008;97:1406-11.
- ⁵⁴ Denny FW, Clyde WA. Acute lower respiratory tract infections in nonhospitalized children. *J Pediatr* 1986.;108:635-46.
- ⁵⁵ Pichini S, Basagaña X, Pacifici R, Garcia O, Puig C, Vall O, et al. Cord serum cotinine as a biomarker of foetal exposure to cigarette smoke at the end of pregnancy. *Environ Health Perspect* 2000;108:1079-83.
- ⁵⁶ Basagaña X, Torrent M, Atkinson W, Puig C, Barnes M, Vall O, et al. Domestic aeroallergen levels in Barcelona and Menorca (Spain). *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13:412-7.
- ⁵⁷ Platts-Mills TAE, de Weck A. Dust mite allergens and asthma – a worldwide problem. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:416-27.
- ⁵⁸ Yanagisawa Y, Nishimura H. Badge-type personal sampler for measurements of personal exposure to NO₂ and NO in ambient air. *Environment International* 1982;8:235-42.
- ⁵⁹ Ronmark E, Perzanowski M, Platts-Mills T, Lundback B. Different sensitization profile for asthma, rhinitis, and eczema among 7-8 year-old children: report from the Obstructive Lung Disease in Northern Sweden studies. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;14:91-9.
- ⁶⁰ Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Roberg KA, Anderson EL, Pappas TE, Printz MC, Lee WM, Shult PA, Reisdorf E, Carlson-Dakes KT, Salazar LP, DaSilva DF, Tisler CJ, Gern JE, Lemanske RF Jr. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178:667-72.
- ⁶¹ Lemanske RF Jr, Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Li Z, Shult PA, Kirk CJ, Reisdorf E, Roberg KA, Anderson EL, Carlson-Dakes KT, Adler KJ, Gilbertson-White S, Pappas TE, Dasilva DF, Tisler CJ, Gern JE. Rhinovirus illnesses during infancy predict subsequent childhood wheezing. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116:571-7.
- ⁶² Stein RT, Martinez FD. Asthma phenotypes in childhood: lessons from an epidemiological approach. *Paediatr Respir Rev*. 2004;5:155-61.
- ⁶³ Singh AM, Moore PE, Gern JE, Lemanske RF Jr, Hartert TV. Bronchiolitis to asthma: a review and call for studies of gene-virus interactions in asthma causation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:108-19.
- ⁶⁴ Martinez FD. The origins of asthma and chronic obstructive pulmonary disease in early life. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6:272-7.
- ⁶⁵ Ramsey CD, Gold DR, Litonjua AA, Sredl DL, Ryan L, Celedón JC. Respiratory illnesses in early life and asthma and atopy in childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119:150-6.
- ⁶⁶ Mohapatra SS, Boyapalle S. Epidemiologic, experimental, and clinical links between respiratory syncytial virus infection and asthma. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21:495-504.
- ⁶⁷ Stensballe LG, Simonsen JB, Thomsen SF, Larsen AM, Lysdal SH, Aaby P, Kyvik KO, Skytthe A, Backer V, Bisgaard H. The causal direction in the association between respiratory syncytial virus hospitalization and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123:131-7.

-
- ⁶⁸ von Linstow ML, Holst KK, Larsen K, Koch A, Andersen PK, Høgh B. Acute respiratory symptoms and general illness during the first year of life: a population-based birth cohort study. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43:584-93.
- ⁶⁹ Kotaniemi-Syrjänen A, Reijonen TM, Korhonen K, Waris M, Vainionpää R, Korppi M. Wheezing due to rhinovirus infection in infancy: Bronchial hyperresponsiveness at school age. *Pediatr Int*. 2008;50:506-10.
- ⁷⁰ Angelakou V, Bitsori M, Galamakis E. Asthma and early childhood infectious disease. *BMJ* 2001;323:164-5.
- ⁷¹ Martinez FD. Heterogeneity of the association between lower respiratory illness in infancy and subsequent asthma. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2:157-61.
- ⁷² Pekkanen J, Xu B, Javerlin MR. Gestational age and occurrence of atopy at age 31: a prospective birth cohort study in Finland. *Clin Exp Allergy* 2001;31:95-102.
- ⁷³ Broughton S, Thomas MR, Martson L, Calvert SA, Marlow N, Peacock JL, Rafferty GF, Greenough A. Very prematurely born infants wheezing at follow-up: lung function and risk factors. *Arch Dis Child* 2007;92:776-80.
- ⁷⁴ Jaakkola J, Ahmed P, Ieromnimon A, Goepfert P, Laiou E, Quansah R, Jaakkola M. Preterm delivery and asthma: a systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:823-30.
- ⁷⁵ Van Odijk, Kull I, Borres MP y col. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy* 2003;58:833-43.
- ⁷⁶ Sears MR, Greene JM, Willan AR y col. Long-term relation between breastfeeding and development of atopy and asthma in children and young adults: a longitudinal study. *Lancet* 2002;360:901-7.
- ⁷⁷ Wright AL, Holberg CJ, Taussig LM, Martinez FD. Factors influencing the relation of infant feeding to asthma and recurrent wheeze in childhood. *Thorax* 2001;56:192-7.
- ⁷⁸ Liese AD, Hirsch T, von Mutius E, Keil U, Leupold W, Weiland SK. Inverse association of overweight and breast feeding in 9-10-y-old children in Germany. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:1644-50.
- ⁷⁹ Singhal A, Cole TJ, Lucas A. Early nutrition in preterm infants and later blood pressure: two cohorts after randomised trials. *Lancet* 2001;357:413-19.
- ⁸⁰ Fredriksson P, Jaakkola N, Jaakkola JJK. Breastfeeding and childhood asthma: a six-year population-based cohort study. *MBC Pediatrics* 2007;7:39 [<http://www.biomedcentral.com/1471-2431/7/39>].
- ⁸¹ Edwards CA, Parret AM. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives. *Br J Nutr* 2002;88:S11-S18.
- ⁸² Oddy WH, Sly PD, de Klerk NH y col. Breast feeding and respiratory morbidity in infancy: a birth cohort study. *Arch Dis Child* 2003;88:224-8.
- ⁸³ Ninan TK, Russell G. Respiratory symptoms and atopy in Aberdeen schoolchildren: evidence from two surveys 25 years apart. *BMJ* 1992;304:873-5.
- ⁸⁴ Zanolli R, Morgese G. Does puberty interfere with asthma? *Med Hypothesis* 1997;48:27-32.

-
- ⁸⁵ Da Silva JA. Sex hormones and glucocorticoids: interactions with the immune system. *An N Y Acad Sci* 1999; 876:102-17.
- ⁸⁶ Hibbert M, Lannigan A, Raven y col. Gender differences in lung growth. *Pediatr Pulmol* 1995;19:129-34.
- ⁸⁷ Metsala J, Kilkkinen A; Kaila M, Tapanainen H, Klaukka T, Gissler M, Virtanen SM. Perinatal factors and the risk of asthma in childhood-A population-based register study in Finland. *Am J Epidemiol* 2008;168:170-8.
- ⁸⁸ Martinez FD, Wright AL, Holberg CJ, Morgan WJ, Taussig LM. Maternal age as a risk factor for wheezing lower respiratory illnesses in the first year of life. *Am Epidemiol* 1992;136:12-58-68.
- ⁸⁹ Melen E, Kere J, Pershagen G, Svartengren M, Wickman. Influence of male sex and parental allergic disease on childhood wheezing: role of interactions. *Clin Exp Allergy* 2004;34:839-44.
- ⁹⁰ Ronmark E, Johnsson E, Platts-Mills T, Lundback B. Different pattern of risk factors for atopic and nonatopic asthma among children: report from the Obstructive Lung Disease in Northern Sweden study. *Allergy* 1999;54:926-35.
- ⁹¹ Burke W, Fesinmeyer M, Reed K, Hampson L, Carlsen C. Family history as a predictor of asthma risk. *Am J Prev Med* 2003;24:160-169.
- ⁹² Bjerg A, Hedman L, Perzanowski M, Platts-Mills T, Lundback B, Ronmark E. Family history of asthma and atopy: in-depth analyses of the impact on asthma and wheeze in 7- to 8- year-old children. *Pediatrics* 2007;120:741-8.
- ⁹³ Ying S, Humbert M, Barkans J y col. Expression of IL-4 and IL-5 mRNA and protein product by CD4+ and CD8+ T cells, eosinophils and mast cells in bronchial biopsies obtained from atopic and nonatopic (intrinsic) asthmatics. *J Immunol* 1997;158:3539-44.
- ⁹⁴ Marra F, Lynd L, Combes M, Richardson K, Legal M, FitzGerald M, Marra CA. Does antibiotic exposure during infancy lead to development of asthma? *Chest* 2006;129:610-8.
- ⁹⁵ Romagnani S. Human TH1 and TH2 subsets: regulation of differentiation and role of protection and immunopathology. *Int Arch Allergy Immunol* 1992;98:279-85.
- ⁹⁶ Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Harkin J. The inverse association between tuberculin response and atopic disorder. *Science* 1997;275:77-9.
- ⁹⁷ Morgan WJ, Stern DA, Sherrill DL, Guerra S, Holberg CJ, Guilbert TW, Taussig LM, Wright AL, Martinez FD. Outcome of asthma and wheezing in the first 6 years of life: follow-up through adolescence. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:1253-8.
- ⁹⁸ Van Den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fourchier RAM y col. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001;7:719-24.
- ⁹⁹ Friedlander SL, Busse WW. The role of rhinovirus in asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:267-73.

Carta de implicación en el proyecto AMICS de la doctoranda Carme Puig Sola

La doctoranda **Carme Puig Sola** ha participado en el proyecto AMICS, desde su primer diseño en 1996, como investigadora al inicio en forma de becaria adscrita al proyecto, y posteriormente como investigadora colaboradora. Se ha encargado de gestionar en su totalidad el trabajo de campo y la base de datos de todos los subproyectos, que incluyen múltiples aspectos de la relación entre los factores ambientales y el asma en la infancia (DETERMINACIÓN DEL PAPEL DE LOS FACTORES AMBIENTALES EN EL DESARROLLO DEL ASMA: PROYECTO AMICS (ASTHMA MULTICENTER INFANT COHORT STUDY): SEGUIMIENTO DE LA COHORTE DESDE EL NACIMIENTO HASTA LOS 6 AÑOS).

- El estudio se inició durante el embarazo de la madre. La doctoranda realizó el reclutamiento de las madres, en la visita de control del embarazo que se realizaba en el Hospital, en el último trimestre de la gestación.
- Se hizo un seguimiento continuo de las infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) durante el primer año de vida. La participación de Carme Puig Sola, junto con una enfermera, fue la realización de las visitas a domicilio de los niños que representaron IRVB, para determinar el diagnóstico y tomar de muestras de secreción nasofaríngea.
- Se han estudiado simultáneamente todos los factores no ambientales y ambientales considerados relevantes en el proceso de iniciación del asma. En este apartado la participación de la doctoranda también ha sido manifiesta y participó en la recogida de las diferentes muestras y entrevistas: visitas a domicilio para recoger las muestras de polvo y filtros de NO₂, toma de muestras de diferentes matrices

biológicas (orina, sangre cordón, cabello, dientes) para valorar la exposición al humo de tabaco, realización de las entrevistas anuales mediante llamadas telefónicas.

- Finalmente, ha participado y consta como autora en la mayoría de las publicaciones derivadas hasta el momento de la explotación científica de esta cohorte.

El estudio se ha prolongado hasta los 6 años de edad de los niños incluidos con los siguientes objetivos:

- El fenotipo asma se expresa a partir de los 3 años y especialmente a los 6 años.
- Valorar cambios en la exposición a alérgenos y tóxicos ambientales.
- Estimar el papel del tabaco: validar el cuestionario y conocer los cambios en la exposición.
- Función pulmonar a partir de los 6 años.
- Sensibilización específica a alérgenos y presencia de hiperreactividad bronquial.

Dijo el caracol:
Esto sí que es prisa,
voy como una exhalación.

Antonio Machado
"Proverbios y Cantares"