


ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



**EPIDEMIOLOGÍA, ASPECTOS
VIROLÓGICOS, CLÍNICA, GRAVEDAD Y
CONSUMO DE RECURSOS SANITARIOS DE
LA INFECCIÓN RESPIRATORIA VIRAL
PEDIÁTRICA**

TESIS DOCTORAL

Jorgina Vila Soler

2023

Directores: Carlos Rodrigo Gonzalo de Liria y Andrés Antón Pagarolas

Tutor: Carlos Rodrigo Gonzalo de Liria

Programa de Doctorado en Pediatría, Obstetricia y Ginecología

DEPARTAMENT DE PEDIATRIA, OBSTETRÍCIA, GINECOLOGIA I DE
MEDICINA PREVENTIVA I SALUT PÚBLICA

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona



FACULTAT DE MEDICINA
DEPARTAMENT DE PEDIATRIA, OBSTETRÍCIA,
GINECOLOGIA I DE MEDICINA PREVENTIVA I SALUT
PÚBLICA

“Epidemiología, aspectos virológicos, clínica,
gravedad y consumo de recursos sanitarios de la
infección respiratoria viral pediátrica”

Tesis doctoral

Jorgina Vila Soler

Directores de tesis

Carlos Rodrigo Gonzalo de Liria

Andrés Antón Pagarolas

Tutor de tesis

Carlos Rodrigo Gonzalo de Liria

Barcelona, Marzo de 2023



Facultat de Medicina

Departament de Pediatria, Obstetrícia, Ginecologia i de Medicina

Preventiva i Salut Pública

Carlos Rodrigo Gonzalo de Liria, Profesor titular de Pediatria de la Universitat Autònoma de Barcelona y Director Clínic de Pediatria del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona, y **Andrés Antón Pagarolas**, facultativo especialista responsable de la Unidad de Virus Respiratorios del Servicio de Microbiología del Hospital Universitari Vall d'Hebron de Barcelona

Certificamos,

Que la memoria titulada **“Epidemiología, aspectos virológicos, clínica, gravedad y consumo de recursos sanitarios de la infección respiratoria viral pediátrica”** presentada por **Jorgina Vila Soler**, ha sido realizada bajo nuestra supervisión y cumple todos los requisitos necesarios que dicta la normativa vigente para ser defendida delante del tribunal correspondiente como compendio de publicaciones en la Universitat Autònoma de Barcelona.

Y para que así conste,

Firmamos este documento en Barcelona, a 14 de marzo de 2023

Dr. Carlos Rodrigo Gonzalo de Liria Dr. Andrés Antón Pagarolas Jorgina Vila Soler

AGRADECIMIENTOS

Los primeros agradecimientos son para el Dr. Carlos Rodrigo y el Dr. Andrés Antón, directores de esta tesis doctoral. Una tesis doctoral dirigida por un pediatra y un microbiólogo, lo que pone de manifiesto el carácter multidisciplinar de un trabajo que iniciamos hace ya más de 5 años y que ha sido el inicio de una colaboración que se materializa en la presente tesis doctoral y que ha permitido establecer la base para una colaboración estable entre las dos especialidades.

Al Dr. Carlos Rodrigo, tutor y director de esta tesis, le agradezco la motivación que me transmitió para poner en marcha este proyecto de investigación. Su dedicación, entusiasmo y su proximidad han sido fundamentales para llevar a cabo esta tesis doctoral. Sirvan estas palabras también para agradecerle los conocimientos y la visión de la pediatría que me transmitió durante los años que compartimos en Vall d'Hebron y reconocerle el impulso que dio a la pediatría hospitalaria. De la misma manera, quiero agradecer la implicación del Dr. Andrés Antón en todos y cada uno de los trabajos que se presentan en esta tesis, y en la confianza que ha depositado en mí, permitiéndome aportar el punto de vista clínico a los trabajos realizados conjuntamente con la unidad de virus respiratorios del Hospital Vall d'Hebron. De la misma manera, su punto de vista ha sido fundamental para el diseño y la interpretación de los resultados de las tres publicaciones que se presentan en esta tesis doctoral.

En tercer lugar, quiero reconocer el esfuerzo e implicación de todos los coautores de las tres publicaciones, es evidente que su participación ha sido indispensable para poder elaborar los tres trabajos. En especial quiero agradecer a Esther Lera su colaboración en el diseño de los estudios, recogida de datos y preparación de los artículos, gracias por tu accesibilidad y por hacer que las cosas sean fáciles.

También quiero reconocer el trabajo de José Ángel Rodrigo y Paula Peremiquel, quienes a pesar de las constantes interrupciones de la COVID-19, han buscado tiempo donde no lo había para realizar el análisis estadístico y colaborar en la

interpretación de los resultados y en la elaboración de los dos artículos sobre bronquiolitis. A Pere Soler le agradezco su acompañamiento durante estos últimos meses y su soporte en la preparación y revisión de los artículos. Gracias a Laia Martínez, Irene Barceló, Marc Tobeña, Vicky Rello, Ariadna Carsi y Joan Balcells por la ayuda en la recogida de datos y redacción de los artículos. Gracias a Zaira Benítez, Marta Aller y Rosario Muñoz por su accesibilidad y ganas de colaborar y por facilitarnos los datos clínicos para la publicación del artículo “The burden of non-SARS-CoV2 viral lower respiratory tract infections in hospitalized children in Barcelona (Spain): a long-term, clinical, epidemiologic and economic study”. Por último, quiero agradecer a María Piñana y a Cristina Andrés quienes han aportado los datos virológicos y el punto de vista microbiológico a los estudios.

Quiero agradecer a mis compañeros de la “Unitat d’Hospitalització Pediàtrica”, con los que he compartido los 5 años de tesis, su ayuda, paciencia, comprensión y compañía en el día a día: Marc Tobeña, Vicky Rello, Ariadna Carsi, Romy Rossich, Laia Martínez, Mireia Beltrán y Érika Arnó.

Per últim vull agrair a totes aquelles persones, família i amics, que m’acompanyen més enllà de la feina, que han format i formen part de la meva vida i que fan que la vida valgui la pena viure-la. En especial gràcies als meus pares per l’educació i els valors que ens han transmès, als meus germans, en Pere i en Pau (aquesta tesi també té una part de vosaltres) i en Borja, per estar sempre al meu costat.

RESUMEN

Introducción: Las infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) virales están asociadas a una elevada morbimortalidad en la población pediátrica y son la principal causa de hospitalización, especialmente en los menores de 2 años, debido a la bronquiolitis por el virus respiratorio sincitial (VRS). Factores genéticos del virus, factores propios del huésped y ambientales, pueden condicionar la gravedad de la bronquiolitis por VRS, una enfermedad para la que el único tratamiento recomendado y que ha demostrado eficacia son las medidas de soporte.

Objetivos y Metodología: La presente tesis doctoral se ha estructurado a partir de tres estudios observacionales, retrospectivos y descriptivos en población pediátrica hospitalizada en el Hospital Infantil Vall d'Hebron de Barcelona. En el primer estudio hemos podido analizar la estacionalidad, clínica, gravedad y consumo de recursos sanitarios hospitalarios de las IRVB virales en niños menores de 16 años entre 2012 y 2020, a partir de los datos estructurados disponibles en la historia clínica electrónica del paciente. En el segundo trabajo, realizado entre las temporadas 2014-2015 y 2017-2018 hemos estudiado si el subgrupo genético del VRS es un factor condicionante de la clínica y gravedad de la bronquiolitis en menores de 24 meses. En el último trabajo, hemos evaluado la adherencia de los clínicos a las recomendaciones de diagnóstico y tratamiento de la bronquiolitis tras la actualización del protocolo del hospital en 2015, basado en las últimas guías de práctica clínica.

Resultados y conclusiones: Los virus con mayor morbilidad por su prevalencia o gravedad han sido el VRS, los virus de la gripe, el metapneumovirus humano y el rinovirus. El VRS ha sido el que se asocia a un mayor incremento de la probabilidad de sufrir una bronquiolitis, el rinovirus de sufrir sibilancias/agudizaciones asmáticas y los virus de la gripe de sufrir neumonía. El virus de la gripe A es el que ha causado las hospitalizaciones más prolongadas y el VRS ha sido el principal virus asociado a los ingresos en la unidad de cuidados

intensivos (UCI). Estas enfermedades se han asociado a una elevada ocupación de camas de hospitalización, tanto convencionales como de críticos, y a un alto consumo de recursos sanitarios, especialmente durante las temporadas epidémicas. Las bronquiolitis por VRS-A han tenido una peor evolución durante la hospitalización en comparación con el VRS-B, evidenciada por una mayor proporción de pacientes con escalas de gravedad moderadas-graves al ingreso, mayor proporción de pacientes con estancia hospitalaria y en UCI superior a 7 días, y mayor proporción de pacientes que ingresan en UCI y que requieren ventilación mecánica invasiva. Finalmente, en relación a la adaptación de la práctica clínica a las recomendaciones del protocolo de bronquiolitis, se ha evidenciado una reducción significativa en el uso de salbutamol, adrenalina y suero salino hipertónico al 3%; la prescripción de corticoides ha disminuido de forma no significativa. Así mismo, ha disminuido de forma significativa la realización de radiografías de tórax y la prescripción de antibióticos. Como preveíamos, estos cambios en la práctica clínica no han dado lugar a una peor evolución de los pacientes.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AAP:	Academia Americana de Pediatría
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
hAdV:	Adenovirus humano
ARN:	Ácido ribonucleico
BMP:	Enfermedad boca-mano-pie
COVID-19:	Coronavirus disease 2019
CV:	Coxsackievirus
E:	Echovirus
ECDC:	European Centre for Disease Prevention and Control
EISN:	European Influenza Surveillance Network
EV:	Enterovirus
GISRS:	Global Influenza Surveillance and Response System
hBoV:	Bocavirus humano
hCoV:	Coronavirus humano
HIVH:	Hospital Infantil Vall d'Hebron
hMPV:	Metapneumovirus humano
hPIV 1-4:	Virus parainfluenza humanos 1-4
IRVA:	Infecciones respiratorias de vías altas
IRVB:	Infecciones respiratorias de vías bajas
MERS-CoV:	Middle East respiratory syndrome coronavirus
NAC:	Neumonía adquirida en la comunidad
NICE:	National Institute for Health and Care Excellence
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PCR:	Proteína C reactiva
PCT:	Procalcitonina
PV:	Poliovirus
RT-PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa a tiempo real

RV:	Rinovirus
SARS-CoV-1:	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 1
SARS-CoV-2:	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SIVIC:	Sistema d'Informació per a la Vigilància d'Infeccions de Catalunya
SIVIRA:	Sistema de Vigilancia de Infección Respiratoria Aguda
SSH3:	Suero salino hipertónico al 3%
UCI:	Unidad de cuidados intensivos
VRS:	Virus respiratorio sincitial

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	v
ÍNDICE.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
1. CONCEPTOS GENERALES.....	2
2. INFECCIONES VIRALES DE VÍAS RESPIRATORIAS BAJAS.....	5
2.1 BRONQUIOLITIS.....	5
2.1.1 Conceptos generales.....	5
2.1.2 Etiología.....	6
2.1.3 Guías de práctica clínica de la bronquiolitis.....	7
2.1.4 Diagnóstico.....	8
2.1.5 Escalas de gravedad de la bronquiolitis.....	10
2.1.6 Tratamiento.....	10
2.2 NEUMONÍA VIRAL.....	15
2.2.1 Conceptos generales.....	15
2.2.2 Etiología.....	15
2.2.3 Diagnóstico.....	16
2.2.4 Tratamiento.....	18
2.3 SIBILANCIAS AGUDAS Y AGUDIZACIONES ASMÁTICAS.....	18
3. VIRUS RESPIRATORIOS.....	20
3.1 VIRUS DE LA GRIPE.....	21
3.1.1 Características.....	21
3.1.2 Epidemiología.....	22
3.1.3 Clínica.....	23
3.2 VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL.....	23
3.2.1 Características.....	23
3.2.2 Epidemiología.....	24
3.2.3 Clínica.....	25
3.3 METAPNEUMOVIRUS HUMANO.....	26
3.3.1 Características.....	26

3.3.2 Epidemiología.....	26
3.3.3 Clínica	27
3.4 ADENOVIRUS HUMANO.....	27
3.4.1 Características	27
3.4.2 Epidemiología.....	28
3.4.3 Clínica	28
3.5 CORONAVIRUS HUMANOS	28
3.5.1 Características	28
3.5.2 Epidemiología.....	29
3.5.3 Clínica	30
3.6 RINOVIRUS	30
3.6.1 Características	30
3.6.2 Epidemiología.....	30
3.6.3 Clínica	31
3.7 BOCAVIRUS HUMANO (o Bocaparvovirus)	31
3.7.1 Características	31
3.7.2 Epidemiología.....	32
3.7.3 Clínica	32
3.8 VIRUS PARAINFLUENZA HUMANOS.....	32
3.8.1 Características	32
3.8.2 Epidemiología.....	33
3.8.3 Clínica	33
3.9 ENTEROVIRUS	33
3.9.1 Características	33
3.9.2 Epidemiología.....	34
3.9.3 Clínica	34
3.10 CODETECCIONES VIRALES	36
4. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO VIRAL	37
4.1 AISLAMIENTO VIRAL EN CULTIVO CELULAR	38
4.2 TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE ANTÍGENOS (INMUNOFLUORESCENCIA)	39
4.3 TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR.....	39
5. SISTEMAS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE VIRUS RESPIRATORIOS	41
JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	42
1. JUSTIFICACIÓN.....	43
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO	45

3. OBJETIVOS	46
3.1 OBJETIVOS PRINCIPALES	46
RESULTADOS	47
1. ESTUDIO 1	48
2. ESTUDIO 2	76
3. ESTUDIO 3	91
DISCUSIÓN	107
CONCLUSIONES	125
REFERENCIAS	129
ANEXO	146
1. OTRAS PUBLICACIONES	147

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. CONCEPTOS GENERALES

Las infecciones respiratorias son una causa importante de morbimortalidad en la población pediátrica. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2019, más de la mitad de las muertes en niños menores de 5 años fueron debidas a enfermedades prevenibles y tratables mediante intervenciones simples. De estas, la neumonía fue la principal causa de mortalidad en niños entre los 28 días y los 5 años. Sin embargo, la tasa de mortalidad por estas causas es 13 veces menor en países desarrollados comparado con los países de bajos ingresos; aun así, en ambos casos, la morbilidad y los costes directos e indirectos de estas enfermedades son elevados (1–5). En España, según datos del Ministerio de Sanidad del año 2017, la mayor tasa de mortalidad en población pediátrica debida a enfermedades del aparato respiratorio se concentró en la población entre 5 y 14 años, seguido de los menores de 1 año (6). En relación con la morbilidad global en menores de 5 años, según el *The Global Burden of Diseases 2016*, en 2016 se produjeron 68,06 millones de infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) (0,11 casos/niño/año) que comportaron 5,13 millones de hospitalizaciones. Los principales microorganismos implicados en estas infecciones fueron el *Streptococcus pneumoniae*, el virus respiratorio sincitial (VRS) y los virus de la gripe. La desnutrición infantil fue el factor de riesgo más relacionado con la mortalidad, responsable del 57% de las muertes en menores de 5 años por IRVB (7). Según el *The Global Burden of Diseases 2017*, desde el año 1990 hasta el año 2017 disminuyó un 32,4% la incidencia de IRVB en menores de 5 años, y con ello se observó una disminución del 65% en la mortalidad por estas enfermedades. Los principales factores asociados a la disminución en la morbimortalidad fueron la mejoría en la cobertura vacunal frente a *Haemophilus influenzae* tipo b y a *S. pneumoniae* y a la reducción de la contaminación ambiental (8).

En la siguiente imagen, adaptada del *World health statistics 2019* de la OMS, se representan las principales causas de muerte en población pediátrica menor de 59 meses a nivel mundial, en la que se evidencia la importancia de las infecciones respiratorias como principal causa de mortalidad infantil (3).

Post-neonatal (1-59 meses)				Neonatal (0-28 días)	
Infección respiratoria aguda 653	Diarrea 424	Otras enfermedades de declaración obligatoria 395		Prematuridad 878	Asfixia perinatal y traumatismos obstétricos 610
Accidentes 304	Otras enfermedades de declaración no obligatoria 242	Meningitis 95	Sarampión 92	Sepsis y otras enfermedades infecciosas del neonato 350	Otras 255
Malaria 263		Prematuridad 65	VIH 75		
	Enfermedades congénitas 191	Asfixia perinatal 61			

Imagen 1. Número de muertes por cada causa (expresada en miles) en niños menores de 59 meses (datos a nivel mundial del año 2017) (3).

En España, según el *Reporte Anual del Sistema Nacional de Salud Español* del año 2016, en menores de 15 años, el principal motivo de consulta en atención primaria fueron las afecciones del aparato respiratorio, con una prevalencia de 1.223,3 casos/1.000 habitantes, siendo las infecciones respiratorias de vías altas (IRVA) las más frecuentes en este grupo de edad (9). Entre las IRVB observadas, las más frecuentes fueron la bronquitis aguda/bronquiolitis seguidas de las agudizaciones asmáticas (9). Según datos del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, en 2015 a nivel español 32.536 niños de entre 0 y 14 años diagnosticados de IRVB (bronquitis aguda,

bronquiolitis y neumonía viral, según codificación basada en la clasificación internacional de enfermedades) requirieron ingreso hospitalario. En Cataluña esta cifra fue de 8.155 niños menores de 14 años (10).

La bronquiolitis, las sibilancias, las agudizaciones asmáticas y las neumonías virales son las principales enfermedades virales de vías respiratorias bajas en la población pediátrica (11–13). De estas, la bronquiolitis es la principal causa de hospitalización en menores de 2 años, y sobre todo en menores de 6 meses, y más de la mitad son debidas al VRS (14). Se calcula que la tasa de hospitalización anual por bronquiolitis por VRS en España es de 2.413 casos/100.000 menores de 2 años y en Cataluña de 1.419 casos/100.000 menores de 2 años. Estas hospitalizaciones tienen un coste medio para el Sistema Nacional de Salud de 2.166 €/caso hospitalizado, con un coste total anual de 47 millones de euros (5). Este coste es mayor en pacientes con comorbilidades como las cardiopatías congénitas, la prematuridad o la displasia broncopulmonar. De todos modos, en la estimación de los costes asociados no se tienen en cuenta el absentismo laboral y la pérdida de productividad de los padres que deben hacerse cargo de los hijos con enfermedades respiratorias.

La enfermedad respiratoria causada por los virus respiratorios y el consumo de recursos sanitarios derivado es variable a lo largo del año, concentrándose sobre todo durante los meses de invierno, coincidiendo con las epidemias anuales del VRS y de los virus de la gripe y con una mayor circulación de otros virus respiratorios (15,16). La interacción entre factores ambientales como la humedad y la polución, factores virales y factores del huésped condicionan la estacionalidad de las enfermedades virales respiratorias y favorecen la exacerbación de pacientes pediátricos con afecciones respiratorias (16–18). Durante la pandemia de SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) la interacción de estos factores se modificó por la circulación de un nuevo virus sumado a las medidas para evitar el contagio, cambiando el patrón habitual de circulación de los virus respiratorios (19,20).

A continuación, se revisan las principales infecciones virales de vías respiratorias bajas en pediatría y los principales virus respiratorios que las causan.

2. INFECCIONES VIRALES DE VÍAS RESPIRATORIAS BAJAS

Las infecciones respiratorias virales se pueden clasificar en función de la zona anatómica afectada en IRVA e IRVB. Las IRVB virales más frecuentes en el paciente pediátrico son la bronquiolitis, las sibilancias, las agudizaciones asmáticas y la neumonía, y son el motivo de estudio de esta tesis doctoral (11–13).

2.1 BRONQUIOLITIS

2.1.1 Conceptos generales

La bronquiolitis es una de las IRVB con más morbimortalidad a nivel mundial, siendo la principal causa de hospitalización en menores de 24 meses (14). La incidencia anual aproximada en países como España es de 16,4 casos por cada 100 niños menores de 2 años y la incidencia de hospitalización anual es de 1,2 casos/100 niños. La morbilidad es mayor en menores de 6 meses, con una incidencia anual de 24,2 casos/100 niños menores de 6 meses, siendo el 86% de los niños que requieren ingreso menores de esta edad (11).

La bronquiolitis se considera el primer episodio de infección viral de las vías respiratorias bajas en el paciente pediátrico. A pesar de ser una enfermedad frecuente y motivo de numerosos estudios, existen controversias en cuanto al límite de edad para poder diagnosticar a un niño de bronquiolitis. Algunos autores ponen el límite en 12 meses, mientras que otros lo ponen en 24 meses (21–23).

Los síntomas son inicialmente de resfriado común, como rinorrea y obstrucción nasal; entre las 24 horas y los 3 días, estos síntomas pueden evolucionar y afectar las vías respiratorias bajas. En la vía respiratoria inferior, la infección viral produce inflamación, edema y necrosis de la pared del bronquiolo que conlleva un aumento de la producción de moco. El moco y los detritus celulares se depositan en la luz del bronquiolo produciendo obstrucción y en grado variable atrapamiento aéreo y colapso pulmonar (22,23). Cuando esto ocurre hablamos de bronquiolitis y los síntomas

incluyen tos, dificultad respiratoria y dificultad para una correcta alimentación, y en la exploración respiratoria se auscultan sibilancias y/o crepitantes. En los menores de 6 semanas y en los prematuros las apneas pueden ser un síntoma destacado. Un tercio de los afectados presentan fiebre. La clínica suele durar unas 2 semanas, aunque se puede extender hasta las 3 (23,24).

Es una enfermedad con carácter estacional. En España y en general en los países de clima templado del hemisferio norte, la epidemia anual se inicia en octubre-noviembre y finaliza entre marzo y abril, con un pico entre los meses de diciembre y enero. Esta estacionalidad se correlaciona con la circulación de los virus causantes de la bronquiolitis, principalmente el VRS (11).

Se han relacionado con un aumento de la gravedad de la bronquiolitis factores del huésped como la edad menor de 6 meses, el sexo masculino, la exposición al humo del tabaco, el hacinamiento o la ausencia de lactancia materna (25,26). El nacimiento durante la primera mitad de la epidemia parece también aumentar el riesgo de bronquiolitis grave, debido a un menor paso transplacentario al feto de anticuerpos maternos específicos frente al virus, debido a la ausencia de exposición reciente de la madre (27,28). Comorbilidades como la prematuridad, las cardiopatías congénitas hemodinámicamente significativas, las enfermedades pulmonares crónicas como la displasia broncopulmonar, las inmunodeficiencias y las enfermedades neuromusculares también se han relacionado con mayor riesgo de bronquiolitis grave (29,30). A pesar de estos factores de predisposición a enfermedad grave, más del 80% de los pacientes que requieren ingreso por bronquiolitis son nacidos a término y sin comorbilidades de riesgo (30).

2.1.2 Etiología

El VRS está considerado como el principal agente etiológico causante de la bronquiolitis. Según los estudios epidemiológicos, entre el 50-80% de las bronquiolitis son debidas a este agente. Otros virus relacionados con la bronquiolitis en menor frecuencia son el rinovirus (RV), el metapneumovirus humano (hMPV), los coronavirus humanos (hCoV), el bocavirus humano (hBoV), los virus de la gripe, el adenovirus humano (hAdV), los virus parainfluenza humanos 1 a 4 (hPIV 1-4) y los enterovirus (EV)

(24,31). El RV es el principal causante de bronquiolitis fuera de la temporada de circulación de VRS. En aproximadamente el 35% de bronquiolitis que requieren hospitalización se codetectan dos o más virus respiratorios, siendo la codetección VRS con RV la más frecuente (32). A continuación, según Meissner et al. (24), se enumeran los virus más habitualmente relacionados con bronquiolitis:

Virus	Especies / Grupo / Genotipo / Linaje	Frecuencia aproximada
VRS	Subgrupos A y B	50-80%
RV	Especies A, B y C (>100 tipos)	5-25%
hBoV	Genotipo 1	12-15%
hPIV 1-4	Especies 1, 2, 3, 4	5-25%
hMPV	Subgrupos A y B	5-10%
hCoV	Especies OC43, 229E, NL63, HKU1	5-10%
hAdV	Especies A, B, C, D, E, F, G (>50 tipos)	5-10%
Virus de la gripe	Tipos A y B	1-5%
EV	Especies A, B C y D (>100 tipos)	1-5%

Tabla 1. Virus detectados en muestras nasofaríngeas de pacientes hospitalizados con bronquiolitis (extraído de Meissner et al.) (24).

2.1.3 Guías de práctica clínica de la bronquiolitis

El manejo diagnóstico-terapéutico de la bronquiolitis es muy variable entre los diferentes profesionales, probablemente debido a controversias históricas en cuanto a la eficacia de los diferentes fármacos y a la ausencia de un tratamiento eficaz para mejorar el pronóstico de la enfermedad. Con el objetivo de unificar el manejo de la bronquiolitis, optimizar la utilización de los recursos sanitarios y mejorar la calidad asistencial, las diferentes sociedades científicas han elaborado guías de práctica clínica basadas en la evidencia científica disponible. Las principales son las guías de la Academia Americana de Pediatría (AAP), actualizadas en 2014, y las guías del *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE), publicadas en 2015 (22,33).

Históricamente, se han utilizado para el tratamiento de la bronquiolitis fármacos como los corticoides sistémicos o el salbutamol y la adrenalina nebulizados.

Sin embargo, en los últimos estudios no se han encontrado evidencias para considerar que estos fármacos sean eficaces para mejorar el pronóstico de la bronquiolitis, razón por la cual las guías previamente mencionadas no recomiendan su utilización. Así mismo, en estas mismas guías, la realización de exploraciones complementarias está limitada a unas indicaciones específicas, ya que el diagnóstico de la bronquiolitis es meramente clínico. Pero a pesar de las recomendaciones algunos estudios demuestran que las exploraciones complementarias y los fármacos se siguen considerando en el manejo de la bronquiolitis (34–36).

En los siguientes dos apartados se resumen las recomendaciones diagnóstico-terapéuticas de la bronquiolitis basadas en las guías previamente mencionadas.

2.1.4 Diagnóstico

El diagnóstico de la bronquiolitis es clínico a partir de la historia clínica y la exploración física. Las exploraciones complementarias no están indicadas de rutina para el diagnóstico, pero pueden ser de utilidad para descartar complicaciones.

a) Pulsioximetría

La saturación de hemoglobina mediante pulsioximetría es un elemento más en la valoración de la gravedad de la bronquiolitis que no se correlaciona con la gravedad de la dificultad respiratoria. La interpretación de la saturación de hemoglobina debe hacerse teniendo en cuenta la clínica del paciente ya que si no puede aumentar la tasa de ingresos y la duración de la estancia hospitalaria (37). En pacientes con bronquiolitis leve o moderada o en aquellos que no requieren oxígeno suplementario, se recomienda que la medida de la saturación de hemoglobina sea discontinua y se considere un valor más dentro de la valoración global del paciente (23). El registro continuo puede mostrar resultados irreales debidos a fallos en la monitorización y puede detectar desaturaciones transitorias, habituales en niños sanos y sin repercusión clínica. Además, en las bronquiolitis sin hipoxemia la evolución clínica es similar independientemente de si la monitorización es continua o intermitente (38,39).

b) Radiografía de tórax

Los hallazgos típicos en la radiografía de tórax de los pacientes con bronquiolitis son opacidades bronquiales, condensaciones peribronquiales e hiperinsuflación, siendo las condensaciones alveolares o atelectasias lobares menos frecuentes (40,41). Los hallazgos en la radiografía de tórax no se correlacionan con la gravedad de la bronquiolitis. Es por esto, que las guías de práctica clínica tan solo recomiendan su realización en pacientes graves que requieren ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI) o en aquellos con signos de complicación (por ejemplo neumotórax) (22,33). La adaptación de la práctica clínica a estas recomendaciones disminuye la prescripción innecesaria de antibióticos ya que algunos de los hallazgos en la radiografía de tórax se pueden confundir con una neumonía bacteriana (42).

c) Detección de virus respiratorios en muestras respiratorias

La detección de virus respiratorios no se recomienda de rutina dentro del proceso diagnóstico de estos pacientes ya que no modifica el manejo clínico. Únicamente se debe considerar su realización previa a la hospitalización para facilitar la cohorteización de los pacientes (22,33). A nivel epidemiológico y de salud pública, el estudio de virus respiratorios en pacientes con bronquiolitis ayuda a monitorizar la circulación de los virus respiratorios y su gravedad (43).

d) Análítica de sangre y cultivos bacterianos

La analítica de sangre y los cultivos bacterianos no están indicados de rutina ya que hasta el 30% de las bronquiolitis se presentan con fiebre debida a la infección viral. Aun así, las guías no especifican en qué pacientes sería recomendable realizar estas exploraciones (22,33). Según estudios previos, se podría considerar la realización de analítica, hemocultivo y sedimento de orina con urocultivo en menores de un mes con fiebre o en aquellos con clínica compatible con infección bacteriana invasiva. El riesgo de infección bacteriana invasiva en niños entre 1-3 meses con bronquiolitis es extremadamente bajo, siendo la infección de orina la más habitual (presente en aproximadamente el 1% de los casos). En menores de un mes el riesgo de infección

bacteriana podría ser similar a aquellos con fiebre sin bronquiolitis (22,33). El sedimento de orina con urocultivo se debería considerar también en menores de 3 meses con fiebre (22,33).

2.1.5 Escalas de gravedad de la bronquiolitis

El tratamiento de la bronquiolitis se basa en medidas de soporte que se adaptan a la situación clínica del paciente a lo largo de la enfermedad. Para poder determinar la gravedad clínica en el momento de la valoración, la probabilidad de empeoramiento y el efecto de las medidas terapéuticas aplicadas se han propuesto varias escalas de gravedad.

Las escalas de valoración de la bronquiolitis incluyen datos subjetivos de la exploración física (sibilancias, crepitantes, retracciones, utilización de musculatura accesoria, etc.) y datos objetivos como la medida de la saturación de hemoglobina, la frecuencia cardíaca y la frecuencia respiratoria (44). Las escalas de gravedad han de ser validadas demostrando ser útiles en la práctica clínica. De todas las escalas propuestas solo unas pocas han estado correctamente validadas (44–46). No existen recomendaciones sobre cuál es la escala que mejor permite evaluar la gravedad del paciente con bronquiolitis, y en las guías de práctica clínica no se incluyen las escalas de gravedad dentro de la valoración de la bronquiolitis.

2.1.6 Tratamiento

A pesar de ser la bronquiolitis una enfermedad muy prevalente en población infantil, con elevada morbimortalidad y coste sanitario, no existe en estos momentos una vacuna ni un tratamiento antiviral eficaces frente al principal agente etiológico (VRS). El único tratamiento preventivo aprobado y comercializado es el palivizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado indicado como inmunoprofilaxis pasiva en los pacientes menores de 2 años con mayor riesgo de infección grave por VRS, como son los recién nacidos pretérmino y los pacientes con neumopatías crónicas o cardiopatías hemodinámicamente significativas (24,47).

Actualmente, están en diferentes fases de ensayo clínico anticuerpos monoclonales, vacunas y antivirales desarrollados para tratar o prevenir la bronquiolitis por VRS, uno de los cuales ya ha sido aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (48,49). Ante la ausencia de una opción terapéutica eficaz, el único tratamiento indicado en estos momentos es el de soporte. A continuación, se exponen las principales opciones terapéuticas utilizadas y la evidencia al respecto.

a) Tratamiento de soporte

1. Hidratación

Es habitual que los pacientes con bronquiolitis presenten dificultades en la ingesta debido a la obstrucción nasal y a la dificultad respiratoria. Es fundamental controlar la ingesta para mantener un correcto estado de hidratación. Si la vía oral es insuficiente para mantener una correcta hidratación, la alimentación se puede administrar por vía enteral mediante sonda nasogástrica u orogástrica o bien vía parenteral, con sueroterapia isotónica para disminuir el riesgo de hiponatremia. La guía NICE (2015) recomienda la sueroterapia en pacientes que no toleran la vía naso u orogástrica o bien en aquellos con fallo respiratorio inminente (22). Las guías de la AAP (2014) no especifican recomendaciones para cada una de las vías de hidratación, pero recomiendan la alimentación vía enteral o mediante sueroterapia endovenosa en todo paciente con una ingesta oral insuficiente para mantener el estado de hidratación (33).

2. Oxígeno

El oxígeno es uno de los pilares del tratamiento de la bronquiolitis. Respecto al límite de saturación de hemoglobina a partir del cual iniciar oxigenoterapia, las guías de la AAP (2014) recomiendan administrar oxígeno suplementario si la saturación de hemoglobina mediante pulsioximetría se mantiene por debajo del 90%, mientras que las guías NICE (2015) lo recomiendan si la saturación está por debajo del 92% (22,33). Existen varias formas de administrar el oxígeno, en función de la gravedad del paciente: oxígeno en bajos flujos, oxígeno

mediante cánulas nasales de alto flujo, ventilación mecánica no invasiva y ventilación mecánica invasiva.

3. *Aspiración de secreciones nasales*

La obstrucción nasal por secreciones puede empeorar la dificultad respiratoria en la bronquiolitis y la limpieza nasal puede proporcionar un alivio transitorio. Esta no está indicada de forma rutinaria, pero se puede valorar en pacientes donde la obstrucción nasal por secreciones dificulta la alimentación o empeora la dificultad respiratoria (22,33).

4. *Fisioterapia respiratoria*

No se ha demostrado que la fisioterapia respiratoria mejore el pronóstico de los pacientes con bronquiolitis. Es por esto que las guías de la AAP (2014) no la recomiendan en ningún caso, mientras que las guías de la NICE (2015) tan solo la recomiendan en pacientes con comorbilidades como atrofia muscular espinal (22,33).

b) Tratamiento farmacológico

1. *Agonistas β_2 adrenérgicos nebulizados (Salbutamol)*

Por su efecto broncodilatador y potencial beneficio en el tratamiento de la bronquiolitis, los agonistas β_2 adrenérgicos nebulizados han sido una opción terapéutica utilizada, aunque no han demostrado mejorar el pronóstico de la enfermedad. En algunos estudios se ha observado una mejoría leve en las escalas de gravedad clínica, pero esta mejoría es transitoria y no modifica la evolución de la bronquiolitis. Comparado con placebo, el salbutamol administrado en el paciente hospitalizado con bronquiolitis no disminuye la estancia hospitalaria; en el paciente ambulatorio no disminuye la tasa de hospitalización, no mejora la oxigenación ni disminuye el tiempo hasta la resolución de la clínica (50). La ausencia de beneficios clínicamente significativos sumados a los efectos secundarios de la medicación (taquicardia, temblores, etc.) hace que las últimas guías de práctica clínica no recomienden el salbutamol como tratamiento de la bronquiolitis (22,33).

2. *Adrenalina nebulizada*

La adrenalina es un agonista de los receptores α y β adrenérgicos. Su administración nebulizada en pacientes hospitalizados con bronquiolitis no ha demostrado modificar la evolución de la enfermedad ni disminuir la estancia hospitalaria. En el paciente ambulatorio, comparado con placebo, la adrenalina nebulizada parece disminuir la tasa de ingreso hospitalario el primer día de administración, pero este beneficio no se mantiene durante el curso de la enfermedad cuando es revalorado a los 7 días de tratamiento. Comparado con salbutamol, en el paciente ambulatorio este beneficio no se ha podido confirmar (51). La ausencia de beneficio demostrado en el paciente hospitalizado y el beneficio leve en el paciente ambulatorio, sumados a la dificultad de la administración en domicilio hace que las últimas guías no recomienden la adrenalina nebulizada como tratamiento para la bronquiolitis (22,33).

3. *Corticoides*

Igual que los agonistas β_2 adrenérgicos y la adrenalina, los estudios realizados para evaluar la efectividad de los corticoides (sistémicos o inhalados) no han demostrado beneficio comparado con placebo y es un tratamiento que tampoco se recomienda en las últimas guías (22,33). En el paciente hospitalizado, no disminuyen la estancia hospitalaria y en el paciente ambulatorio no disminuyen la tasa de hospitalización. Otras variables estudiadas en el paciente no hospitalizado como la modificación en las escalas clínicas de gravedad, la duración de la sintomatología, la disminución de la tasa de hospitalización en los días 1 y 7 de tratamiento tampoco han demostrado diferencias significativas respecto al placebo (52).

4. *Suero salino hipertónico al 3% nebulizado*

La indicación del suero salino hipertónico al 3% (SSH3) nebulizado en la bronquiolitis se ha basado en los teóricos efectos sobre la mucosa respiratoria disminuyendo el edema, mejorando la viscosidad y la elasticidad de las secreciones, y favoreciendo el aclaramiento mucociliar (53). Los resultados de los primeros estudios realizados en pacientes con clínica leve-moderada demostraban

una disminución en las escalas de gravedad en el paciente hospitalizado y ambulatorio y de la estancia hospitalaria en los pacientes que estaban hospitalizados durante 3 o más días (54). Debido a este potencial beneficio, las guías de la AAP (2014) recomiendan la administración de SSH3 nebulizado en el paciente hospitalizado con bronquiolitis, pero no en el paciente atendido en urgencias que no cumple criterios de ingreso (33). Metaanálisis posteriores, confirmaron que el SSH3 en el paciente hospitalizado disminuía la estancia hospitalaria entre 0,41 y 0,45 días, una disminución clínicamente poco significativa (55,56). Aunque un re-análisis de uno de los metaanálisis no demostró este beneficio en la disminución de la estancia hospitalaria (57). Debido al poco beneficio demostrado del SSH3 nebulizado, las guías NICE (2015) no lo recomiendan como tratamiento de la bronquiolitis (22).

5. *Antibióticos*

Los antibióticos solo están indicados en casos de coinfección bacteriana confirmada o elevada sospecha de la misma. La bronquiolitis es una infección vírica, y como tal puede acompañarse de fiebre sin que esto indique infección bacteriana concomitante. En neonatos, el riesgo de infección bacteriana es similar a aquellos recién nacidos con fiebre sin foco y en estos hay que valorar la necesidad de realizar cultivos e iniciar antibioterapia empírica. En lactantes en cambio, el riesgo parece mucho menor comparado con niños de la misma edad con fiebre sin foco (33). Las infecciones bacterianas más habituales que hay que tener en cuenta en estos pacientes y que pueden justificar iniciar tratamiento antibiótico son la infección de orina, la otitis media aguda y la neumonía bacteriana (33). La otitis media aguda está presente en hasta el 50-60% de los niños con bronquiolitis, siendo clínicamente difícil de diferenciar la causa vírica de la bacteriana y solo la timpanoplastia con cultivo de la secreción del oído medio permitiría diferenciarlo (33). Finalmente, la neumonía bacteriana asociada a bronquiolitis es un reto diagnóstico ya que como se ha comentado previamente, algunos hallazgos en la radiografía de tórax de una bronquiolitis se pueden confundir con una neumonía bacteriana, aumentando el uso injustificado de antibióticos. Los reactantes de fase

aguda en sangre pueden ayudar a diferenciar la causa vírica de la bacteriana en casos de duda diagnóstica (33).

2.2 NEUMONÍA VIRAL

2.2.1 Conceptos generales

Según datos de la OMS, cada año se diagnostican en todo el mundo 450 millones de casos de neumonía y 4 millones de personas mueren por este motivo, sobre todo en países de bajos ingresos. En los países de altos ingresos, se diagnostican anualmente unos 5 millones de casos de neumonía, siendo la mortalidad en estos países excepcional. Por edades, la mayor incidencia se concentra en los menores de 5 años y en los mayores de 75 (12).

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) se define por una infección aguda de la vía respiratoria inferior con una duración inferior a 14 días o iniciada los últimos 14 días, adquirida en la comunidad, y que se manifiesta con tos y/o dificultad respiratoria y evidencia de nuevo infiltrado pulmonar en la radiografía de tórax. La etiología puede ser vírica o bacteriana, siendo la causa viral la más frecuente en menores de 2 años (58).

En lactantes, diferenciar clínicamente una bronquiolitis de una neumonía viral puede ser difícil y los hallazgos radiológicos se pueden confundir. A nivel radiológico, los engrosamientos peribronquiales y las áreas de múltiples atelectasias y/o infiltrados parcheados de pequeño tamaño, excepto si se acompañan de derrame pleural, son más sugestivos de bronquiolitis que de neumonía (58). En zonas con recursos limitados e imposibilidad de realizar radiografías de tórax, la OMS propone el diagnóstico probable de NAC en lactantes y niños con fiebre, tos, rechazo de la alimentación y/o dificultad respiratoria (59).

2.2.2 Etiología

La introducción de las técnicas moleculares en el diagnóstico virológico ha permitido mejorar el conocimiento de la etiología de las NAC. Probablemente, antes

de la utilización de las técnicas moleculares, la incidencia de NAC virales habría sido infravalorada, debido a la menor sensibilidad de las pruebas microbiológicas, principalmente basadas en métodos antigénicos, y a un menor abanico de virus respiratorios que podían ser detectados (12).

La prevalencia de infección viral en pacientes con NAC oscila entre el 43 y el 67% (12). Aproximadamente, una treintena de virus se han relacionado con NAC virales, los más frecuentes se resumen en la siguiente tabla extraída de Ruuskanen et al. (12):

Virus	Especies / Grupo / Genotipo / Linaje	Incidencia NAC	
		Niños	Adultos
RV	Especies A, B y C (>100 tipos)	18%	6%
VRS	Subgrupos A y B	11%	3%
Virus de la gripe	Tipos A y B	10%	8%
hPIV 1-4	Especies 1, 2, 3, 4	8%	2%
hMPV	Subgrupos A y B	8%	1%
EV	Especies A, B C y D (>100 tipos)	7%	-
hCoV	Especies OC43, 229E, NL63 , KU1	7%	5%
hAdV	Tipos 7, 14, 16	3%	2%
hBoV	Genotipo 1	5%	<1%

Tabla 2. Principales virus implicados en NAC virales e incidencia en función de la edad (extraído de Ruuskanen et al.) (12).

2.2.3 Diagnóstico

Una historia clínica y una exploración física compatibles junto a la aparición de una condensación en la radiografía de tórax permiten confirmar el diagnóstico de NAC. Los infiltrados alveolares se han asociado con mayor frecuencia a infecciones bacterianas, por el contrario, los infiltrados intersticiales sugieren infección viral. Aun

así, esta asociación no siempre se cumple y las coinfecciones virus-bacteria pueden producir diferentes patrones radiológicos (12).

Poder distinguir entre etiología vírica y bacteriana permite evitar el uso innecesario de antibióticos y anticiparse a las posibles complicaciones. Los biomarcadores en sangre y los estudios microbiológicos nos pueden ayudar a hacer la aproximación diagnóstica, aunque los estudios microbiológicos tienen un rendimiento variable en función de la muestra (58). La utilidad de la proteína C reactiva (PCR) y la procalcitonina (PCT) es limitada y no están definidos los puntos de corte a partir de los cuales poder diferenciar entre etiología vírica y bacteriana. Aun así, la PCR y la PCT son biomarcadores de utilidad para predecir la gravedad de la NAC y hacer el seguimiento de los pacientes con NAC graves (60,61). Otros resultado de laboratorio, como la cifra de leucocitos, neutrófilos o el valor de la velocidad de sedimentación globular no son marcadores útiles ya que los valores son similares para ambas etiologías (60).

La suma de los hallazgos clínicos y en las exploraciones complementarias, junto con la edad del paciente y el contexto epidemiológico en el momento del inicio de los síntomas, pueden ayudar a hacer una orientación etiológica. Las variables que nos sugieren una u otra etiología se especifican en la siguiente tabla (12):

	Sugestiva de etiología viral	Sugestiva de etiología bacteriana
Edad	< 5 años	Adultos
Situación epidémica	Coincidiendo con la epidemia de los principales virus respiratorios	
Inicio de los síntomas	Insidioso	Rápido
Síntomas más frecuentes	Rinitis, sibilancias	Fiebre elevada, taquipnea
Biomarcadores		
Leucocitos	<10x10 ⁹ /L	>15x10 ⁹ /L
PCR	<2 mg/dL	>6 mg/dL
PCT	<0,1 µg/L	>0,5 µg/L

Radiografía de tórax	Infiltrados intersticiales, afectación bilateral	Infiltrados alveolares
Respuesta al antibiótico	No respuesta	Rápida respuesta

Tabla 3. Variables que pueden ayudar a diferenciar la etiología de la NAC entre vírica y bacteriana (extraído de Ruuskanen et al.) (12).

2.2.4 Tratamiento

El tratamiento de la NAC viral es en general de soporte. La dificultad para disponer de medios para poder confirmar microbiológicamente la NAC viral y la posibilidad de coinfección virus-bacteria son factores que pueden facilitar la prescripción de antibióticos en estos pacientes. Aun así, algunos estudios sugieren que en NAC de probable origen viral (resultados de muestras respiratorias positivas a uno o más virus, diagnóstico en los meses de mayor circulación de los virus respiratorios, resultado de los biomarcadores compatible, etc.) podría no administrarse tratamiento antibiótico, sobre todo si los síntomas son leves-moderados (12,62).

El tratamiento dirigido está disponible principalmente para la NAC por los virus de la gripe. Los inhibidores de la neuraminidasa –oseltamivir, zanamivir y peramavir– han demostrado disminuir la duración de los síntomas si se administran de forma precoz, entre las 24 y 72 horas del inicio de los síntomas (12).

2.3 SIBILANCIAS AGUDAS Y AGUDIZACIONES ASMÁTICAS

Las sibilancias agudas son episodios de obstrucción reversible de la vía respiratoria inferior que se manifiestan con dificultad en la espiración, sibilancias y disnea. Las sibilancias agudas se presentan durante la edad infantil y se calcula que el 30-50% de los niños presentaran como mínimo un episodio antes de la edad escolar y de estos, el 30-40% presentará episodios recurrentes. La etiología en la mayoría de los casos es vírica. Los pacientes con antecedente de bronquiolitis o sibilancias agudas por

VRS o RV tienen mayor riesgo de presentar sibilancias recurrentes los primeros años de vida (13,63,64).

Según el fenotipo y la historia natural se pueden dividir los episodios de sibilancias en: transitorias de inicio precoz, persistentes y de inicio tardío. Estos dos últimos fenotipos pueden estar asociados con sensibilización y asma (13,63).

A continuación, se especifican los virus causantes de sibilancias agudas por orden de frecuencia (extraído de Coverstone et al.) (65).

Virus	Frecuencia (%)
RV	28-76%
VRS	16-29%
EV	4-27%
hBoV	5-18%
hPIV 1-4	8-9%
hMPV	3-6%
hAdV	3-7%
hCoV	2-5%
Virus de la gripe	2-4%

Tabla 4. Frecuencia de cada virus detectado en sibilancias agudas en niños (extraído de Coverstone et al.) (65).

Por su parte, el asma es la enfermedad crónica más frecuente a nivel mundial con una prevalencia en nuestra área geográfica del 10% (66). Se caracteriza por inflamación e hiperreactividad del bronquio y se presenta con síntomas recurrentes secundarios a la obstrucción reversible de la vía aérea inferior. La inflamación crónica y la lesión del epitelio de la vía respiratoria aumentan la susceptibilidad de la vía aérea a factores como los virus o los alérgenos, causando las agudizaciones asmáticas (13,67).

El antecedente de infecciones respiratorias virales puede favorecer la aparición de asma. La interacción entre los factores de virulencia del virus, los factores del huésped y los factores ambientales determina el riesgo de desarrollar asma. Los dos virus que más se han relacionado con la aparición de asma son el VRS y el RV. Haber sufrido sibilancias agudas por RV en la etapa más temprana de la infancia aumenta el riesgo de asma hasta siete veces comparado con VRS, sobre todo en pacientes con

antecedentes de atopia en los progenitores (13). Además de favorecer la aparición de asma, el RV y el VRS son los virus más prevalentes en muestras respiratorias de pacientes con agudizaciones asmáticas, aunque otros virus respiratorios también pueden desencadenar agudizaciones asmáticas (65).

3. VIRUS RESPIRATORIOS

Las infecciones respiratorias virales han afectado a la humanidad durante siglos. Durante el siglo XX la investigación permitió identificar por primera vez algunos de los agentes causantes de estas infecciones a partir de su aislamiento en cultivos celulares. Dentro de estos primeros virus descritos encontramos los virus de la gripe, hAdV, hCoV, hPIV, VRS y RV. Sin embargo, el desarrollo de nuevas pruebas de laboratorio basadas en técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa a tiempo real (RT-PCR), ha permitido detectar nuevos virus respiratorios capaces de producir enfermedad en humanos (hMPV, hBoV y nuevas especies de hCoV). Las técnicas de diagnóstico molecular, al ser más sensibles que las clásicamente utilizadas y con capacidad para *multiplexar*, permiten estudiar mejor la epidemiología de las infecciones virales. Además, la secuenciación ha supuesto un paso adelante no solo para poder identificar estos virus respiratorios, sino también para poder conocer las características genéticas de los diferentes virus respiratorios y monitorizar su evolución.

Según las características genéticas y antigénicas, un mismo virus se puede clasificar en diferentes especies, subtipos, genotipos o linajes. El estudio de esta diversidad genética / antigénica de los virus respiratorios, junto a las características del huésped y a los factores ambientales, pueden ayudar a explicar las diferencias epidemiológicas, clínicas y en la gravedad de la enfermedad por un mismo virus en diferentes huéspedes y a facilitar la gestión de los recursos sanitarios. Adquirir conocimiento sobre esta diversidad a nivel genético de los virus en circulación, también permite estudiar posibles dianas terapéuticas (antivirales) o de prevención (vacunas o anticuerpos monoclonales) (68,69). Además, disponer de datos actualizados de la morbimortalidad asociada permitirá comprobar el efecto

beneficioso de estas terapias y profilaxis en desarrollo una vez se apliquen a la población.

Hasta la fecha, los virus respiratorios más estudiados en la población pediátrica han sido: VRS, virus de la gripe, RV, hAdV, hCoV, hBoV, hMPV, EV y hPIV 1-4. El VRS, los virus de la gripe, los hPIV 1-4, el hMPV y el RV son los virus respiratorios que más se han asociado a IRVB en menores de 5 años (70). En la siguiente tabla (adaptada de Calvo et al.) se muestran los virus detectados en muestras respiratorias de pacientes pediátricos menores de 14 años hospitalizados por infecciones respiratorias virales confirmadas (total y en mono infección) (71):

Virus	Total (%)	Mono infección (%)
VRS	26,9%	31,6%
RV	29%	29,6%
hAdV	9,3%	6,6%
hPIV 1-4	8,4%	8,5%
hBoV	7,9%	3,1%
hMPV	6,8%	8,3%
Virus de la gripe	6,8%	10,2%
EV	2,5%	1,5%
hCoV	2,3%	1,5%

Tabla 5. Frecuencia de detección (total y en mono infección) de los diferentes virus respiratorios en muestras respiratorias de población pediátrica menor de 14 años hospitalizada (extraído de Calvo et al.) (71).

A continuación, se resumen las características virológicas y clínicas de los virus respiratorios más prevalentes descritos hasta ahora.

3.1 VIRUS DE LA GRIPE

3.1.1 Características

Los virus de la gripe son virus (grupo V de Baltimore) con un genoma de ácido ribonucleico (ARN), segmentado, monocatenario, y polaridad negativa, con una

envuelta lipídica. Pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae* y se clasifican en tres tipos gripales capaces de producir enfermedad en humanos (A, B y C) (72). Los virus de la gripe A y B son los responsables de las epidemias de gripe anuales mientras que el virus de la gripe C causa enfermedad leve-moderada y se detecta de forma esporádica. Además de las epidemias anuales, algunos subtipos del virus de la gripe A han sido causa de pandemias mundiales en las que a partir de un fenómeno de reordenamiento del virus en reservorios animales, este ha podido infectar a seres humanos y mantener de forma sostenida la transmisión persona a persona (72). Los virus de la gripe A se clasifican en subtipos según las características antigénicas de las dos glicoproteínas de la envuelta, la hemaglutinina (H1-H18) y la neuraminidasa (N1-N11). Por otro lado, los virus de la gripe B se clasifican en dos linajes (Yamagata y Victoria), genética y antigénicamente diferentes, ambos capaces de producir enfermedad en humanos (72).

3.1.2 Epidemiología

Los virus de la gripe producen epidemias durante los meses de invierno con un pico de incidencia en nuestra área geográfica, hasta la pandemia de SARS-CoV-2, durante el mes de enero. Según estudios epidemiológicos, en 2018 a nivel mundial los virus de la gripe infectaron a 109,5 millones de niños menores de 5 años, causaron 10,1 millones de casos de IRVB y de estos, 0,87 millones requirieron hospitalización, de los cuales 34.800 fallecieron. Aproximadamente, el 7% de todas las IRVB en menores de 5 años son debidas a estos virus de la gripe estacionales, siendo responsables del 5% de las hospitalizaciones y del 4% de los fallecimientos por esta causa. Sin embargo, es importante destacar que la morbilidad es mayor en niños menores de 6 meses y en países con bajos recursos socioeconómicos (16,73).

Los niños menores de 5 años, y sobre todo los menores de 2, y aquellos con comorbilidades como neumopatías crónicas, cardiopatías hemodinámicamente significativas o enfermedades neuromusculares presentan mayor morbilidad a la infección por los virus de la gripe (72).

3.1.3 Clínica

El espectro clínico de la infección por los virus de la gripe puede ser muy variado, desde una infección asintomática hasta síntomas graves que requieren de hospitalización y soporte respiratorio. El período de incubación es de 1-2 días, tras el cual se inician los síntomas, habitualmente con fiebre. La fiebre en el paciente pediátrico puede presentarse como una fiebre sin foco o convulsiones febriles. A nivel respiratorio, la clínica puede limitarse a la vía respiratoria superior con tos, mucosidad nasal y odinofagia o afectar la laringe produciendo laringitis aguda. La afectación de la vía respiratoria inferior puede producir neumonía primaria (por el propio virus) o secundaria (por coinfección con bacterias como *S. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* o *H. influenzae*, entre otros), bronquiolitis, sibilancias agudas o agudizaciones asmáticas (72). Durante la epidemia anual, hasta un 20% de las sibilancias agudas recurrentes o de las crisis asmáticas en niños son desencadenadas por los virus de la gripe. Aun así, no parece que la infección a edades tempranas por este virus favorezca la aparición posterior de sibilancias recurrentes o asma (65).

Dentro de los síntomas no respiratorios más frecuentes se incluye la miositis y la rabdomiólisis, síntomas cardíacos como la pericarditis o la miocarditis y síntomas neurológicos como encefalomielitis, mielitis transversa o síndrome de Guillain-Barré (72).

Estudios previos han comparado la gravedad de los virus de la gripe A y B sin encontrarse diferencias significativas (74).

3.2 VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL

3.2.1 Características

El VRS fue descrito por primera vez hace más de 50 años. Es un virus del género *Orthopneumovirus*, familia *Pneumoviridae*, orden *Mononegavirales*. Estructuralmente, es un virus (grupo V de Baltimore) con un genoma lineal de ARN, monocatenario y polaridad negativa, con envuelta lipídica. El ARN viral codifica, entre otras, las proteínas necesarias para la replicación viral (la fosfoproteína y la polimerasa),

proteínas no estructurales implicadas en la evasión de la respuesta inmunitaria innata (NS-1 y NS-2) y las glicoproteínas transmembrana expuestas al exterior (proteína F, proteína G y proteína SH). La proteína G es la proteína de unión al receptor de las células de la vía respiratoria e induce la respuesta inmunitaria adquirida en el huésped; la proteína F o de fusión permite al virus liberar el material genético en el interior de las células infectadas después de un cambio de conformación; y la proteína SH funciona como un canal de iones (75,76).

Durante la replicación, el VRS acumula de forma progresiva mutaciones genéticas en su genoma debido a que la ARN polimerasa ARN dependiente no dispone capacidad de corrección de errores (o *proofreading*) (76). Entre las diferentes proteínas virales, la proteína G es la más variable, y es por esta mayor variabilidad que se utiliza para la clasificación filogenética del virus a partir de la secuenciación parcial o completa de su región codificante (76). Existen dos subgrupos genética y antigénicamente diferentes, VRS-A y VRS-B, que a su vez se clasifican en diferentes genotipos o subgenotipos (77). Hasta el momento se han descrito 15 genotipos de VRS-A y 28 de VRS-B, aunque esta clasificación está en constante revisión y pendiente de estandarizar su nomenclatura (78).

3.2.2 Epidemiología

El VRS es un virus con una circulación estacional en nuestro medio, que se inicia en otoño y finaliza en primavera con un pico de circulación en invierno, entre las semanas 50 y 53. El pico de incidencia de VRS precede aproximadamente un mes al pico epidémico de los virus de la gripe (15,78). La cocirculación de ambos subgrupos de VRS (A y B), y los respectivos genotipos, es variable entre temporadas epidémicas. Según datos de Cataluña, entre 2013 y 2020 el VRS-B predominó en todas las temporadas menos la 2015-2016 y la 2019-2020 (79). A nivel de genotipos de VRS-A, a partir de la temporada 2010-2011 el genotipo predominante hasta entonces, el NA1, fue sustituido por el ON1. En cuanto al VRS-B el 91% de los virus caracterizados entre 2013 y 2018 pertenecieron al genotipo BA9, y el resto, a los genotipos BA13 (6%) y BA10 (3%) (78).

El VRS es el principal virus relacionado con las IRVB en niños. Se calcula que a los 2 años de edad todos los niños se han infectado por este virus y un 2% de estos individuos ha requerido hospitalización (76). Anualmente, en menores de 5 años el VRS es el causante a nivel mundial de 33 millones de IRVB que comportan 3,6 millones de hospitalizaciones y 26.300 fallecimientos. La morbimortalidad se concentra en menores de 6 meses y en países de ingresos medios-bajos (14). A nivel español, la incidencia anual de hospitalizaciones por VRS es de 1.072 casos/100.000 menores de 5 años y de 2.413 casos/100.000 menores de 2 años con una mortalidad de 1,47 casos/100.000 menores de 5 años y 3,4 casos/100.000 menores de 2 años (5).

3.2.3 Clínica

El VRS se transmite de forma directa a partir de la inhalación de gotas respiratorias o de forma indirecta por contacto con objetos contaminados por estas secreciones respiratorias. Una vez infecta el epitelio respiratorio del huésped, se inicia la replicación viral, alcanzando una elevada carga viral en la mucosa de la nasofaringe, pudiéndose diseminar entonces a todo el tracto respiratorio. La infección por VRS puede ser clínicamente asintomática, leve en forma de resfriado, o grave con afectación de la vía respiratoria inferior. La primoinfección antes de los 2 años es más frecuente que sea sintomática, afectando la vía respiratoria inferior en forma de bronquiolitis y en los menores de 6 semanas puede presentarse con apneas. Las reinfecciones en niños mayores y adultos suelen ser leves o moderadas con clínica de IRVA, sibilancias agudas, agudizaciones asmáticas o neumonía (80,81).

Factores del huésped como la edad o la presencia de enfermedades crónicas como las cardiopatías congénitas, la prematuridad, la displasia broncopulmonar o las inmunodeficiencias, aumentan el riesgo de sufrir una enfermedad grave por VRS (24). Factores virales como el genotipo o tipo genético, o algunos marcadores genéticos asociados virulencia, también podrían afectar a la gravedad. Pero los resultados no son concluyentes para esta asociación de subgrupo genético y gravedad. Muchos estudios apuntan a que el VRS-A produce patología respiratoria de mayor gravedad que el VRS-B, requiriendo los pacientes mayor estancia en UCI (82). En niños prematuros, el VRS-A se relaciona con la mayoría de ingresos en UCI (83). Aunque otros estudios no han

encontrado diferencias en la gravedad (84–86), y en uno, los pacientes infectados por VRS-B requirieron con más frecuencia oxígeno comparado con el genotipo ON1 de VRS-A (87). Comparando la gravedad de los genotipos de VRS-A, NA1 y ON1, parece que el NA1 es más grave, afectando a pacientes de menor edad, se presenta más habitualmente con clínica de vías respiratorias bajas y la tasa de hospitalización es mayor (85,86,88). Sin embargo, estos estudios se tienen que ir actualizando teniendo en cuenta el predominio los últimos años de los genotipos ON-1 y BA, y que este virus respiratorio evoluciona temporada a temporada a nivel molecular.

3.3 METAPNEUMOVIRUS HUMANO

3.3.1 Características

Fue descrito por primera vez en 2001 por científicos holandeses, aunque datos seroepidemiológicos apuntan a que el hMPV ha circulado entre humanos desde hace más de 6 décadas. El hMPV es un virus del género *Metapneumovirus*, familia *Pneumoviridae*, orden *Mononegavirales*. Estructuralmente, es un virus (grupo V de Baltimore) con envuelta, y con un genoma lineal de ARN, monocatenario y polaridad negativa que codifica 9 proteínas virales. De forma similar al VRS, en la envuelta viral encontramos 3 proteínas, la proteína F o de fusión, la proteína SH y la proteína G encargada del anclaje a las células del huésped. La F es una proteína muy conservada, la proteína G, en cambio, es muy variable y poco inmunógena. A partir de las diferencias en la proteína G, se distinguen dos subgrupos genéticos de hMPV (A y B) que a su vez se clasifican en diferentes subgenotipos (A1, A2 [dividido en linajes y sublinajes, A2a, A2b1, A2b2 y A2c], B1 y B2 [dividido en dos linajes, B2a y B2b]) (89,90).

3.3.2 Epidemiología

El hMPV produce anualmente a nivel mundial 11,1 millones de casos de IRVB en menores de 5 años (8% de todas las IRVB en este grupo de edad) que implican 502.000 ingresos hospitalarios y 11.300 fallecimientos. En menores de 5 años, entre el

3-10% de las hospitalizaciones por IRVB son debidas al hMPV. La morbimortalidad es mayor en menores de 12 meses y en países con bajos ingresos (91).

La circulación en nuestra área geográfica ocurre entre finales de invierno y primavera con un pico máximo entre febrero y mayo (92). Los diferentes genotipos, subgenotipos y linajes cocirculan durante la misma temporada y en diferentes áreas geográficas. Hasta en un 30-40% de los casos se encuentra en codetección con otros virus respiratorios, los más habituales son RV, hAdV y hBoV (93,94).

3.3.3 Clínica

El hMPV produce síntomas de IRVA e IRVB a todas las edades, siendo la población pediátrica menor de 5 años la más susceptible. Los diagnósticos más frecuentes en el paciente pediátrico hospitalizado con una infección por hMPV son sibilancias agudas recurrentes o asma (60-70%), bronquiolitis (23-30%) y neumonía (6-8%), siendo la bronquiolitis el diagnóstico más habitual en menores de 6 meses (94). La edad menor de 6 meses, la prematuridad y las condiciones de hacinamiento en el domicilio son factores que se han relacionado con la gravedad de la infección (95). Respecto al genotipo viral, los resultados de los estudios no son concluyentes; algunos apuntan que el genotipo A se asocia a mayor gravedad, otros que el B causa enfermedad más grave, y en algunos no se encuentran diferencias entre los dos subgrupos (95-97).

3.4 ADENOVIRUS HUMANO

3.4.1 Características

El hAdV es un virus (grupo I de Baltimore) con un genoma de ácido desoxirribonucleico (ADN) lineal, de doble cadena y sin envuelta lipídica que pertenece al género *Mastadenovirus*, familia *Adenoviridae*. Se han descrito hasta 68 tipos diferentes de hAdV que se agrupan en 7 especies (A-G). Estas, tienen características antigénicas, epidemiológicas y clínicas diferentes. Las especies B, C y E suelen infectar

el tracto respiratorio superior e inferior. Finalmente, la especie D infecta sobre todo conjuntiva y las especies F y G el tracto gastrointestinal (98,99).

3.4.2 Epidemiología

El hAdV circula durante todo el año en nuestra área geográfica. En la edad pediátrica, la incidencia es mayor en niños entre los 12 meses y los 6 años, siendo la incidencia en menores de 1 año del 4-15%. En el 40-50% de los casos se codetecta con otros virus respiratorios, sobre todo RV, VRS y hPIV 1-4. Las especies de hAdV que más habitualmente causan infecciones respiratorias en niños son la B (B3, B7, B21), la C (C1, C2, C5, C6) y la E (E4) (16,98,99).

3.4.3 Clínica

El espectro clínico es muy variado y se puede manifestar con fiebre, infección respiratoria, fiebre faringoconjuntival, queratoconjuntivitis o gastroenteritis.

En la población pediátrica, entre el 5 y el 10% de las infecciones respiratorias son debidas a hAdV. Las IRVB habitualmente son de gravedad leve o moderada, aunque se han descrito casos de enfermedad respiratoria grave principalmente en pacientes inmunodeprimidos. La clínica de IRVB es habitualmente en forma de neumonía (85% de los casos); en menor frecuencia se asocia a bronquiolitis y sibilancias agudas. En ocasiones, las infecciones respiratorias pueden asociarse a gastroenteritis aguda (98,99).

3.5 CORONAVIRUS HUMANOS

3.5.1 Características

Los hCoV se describieron por primera vez en la década de los 60 del siglo XX. Desde entonces, y sobre todo a raíz de las alertas sanitarias por *severe acute respiratory syndrome coronavirus 1* (SARS-CoV-1) en 2001-2002, del *Middle East respiratory syndrome coronavirus* (MERS-CoV) desde 2012, y de la pandemia de SARS-CoV-2 que se inició a finales de 2019, ha crecido el interés por estos virus.

Los hCoV son virus (grupo IV de Baltimore) con genoma ARN, lineal, monocatenario y polaridad positiva, con envuelta lipídica, y se clasifican en hasta 4 géneros distintos (alpha, beta, gamma y deltacoronavirus) dentro de la familia *Coronaviridae* del Orden *Nidovirales*. Los diferentes hCoV estacionales (NL63, 229E, OC43 y HKU1) y no estacionales (SARS-CoV-1, MERS-CoV y SARS-CoV-2) pertenecen al género *Alphacoronavirus* (hCoV-229E y hCoV-NL63) y *Betacoronavirus* (hCoV-OC43, hCoV-HKU1, MERS-CoV y SARS-CoV-1 y SARS-CoV-2) (80). Los hCoV estacionales son endémicos, tienen una distribución mundial, y habitualmente causan infecciones respiratorias leves-moderadas. Por otro lado, SARS-CoV-1, MERS-CoV y SARS-CoV-2 han causado epidemias, han tenido el potencial para causar pandemias o han sido causa de pandemias, respectivamente (100,101).

3.5.2 Epidemiología

Los hCoV que con mayor frecuencia afectan a niños son los estacionales, y son los que se han estudiado en esta tesis doctoral. Aunque circulan a lo largo del año, estos predominan en los meses de invierno con un pico de incidencia en diciembre. Entre el 4-6% de los pacientes pediátricos hospitalizados por infecciones respiratorias tienen muestras respiratorias positivas para hCoV, siendo el hCoV-OC43 el más frecuente. La tasa de hospitalización en pacientes con IRVB por hCoV es de 1,5 casos/1.000 niños menores de 5 años y 2,8 casos/1.000 menores de 1 año (102–104). En el 40-50% de los pacientes hospitalizados, los hCoV se codetectan con otros virus respiratorios como los virus de la gripe, VRS, RV, hBoV o hMPV. En un 10% de los casos se encuentran en muestras respiratorias de pacientes asintomáticos (102–105).

Respecto a los hCoV no estacionales, la incidencia y gravedad de la infección por SARS-CoV-1 y MERS-CoV en niños es menor, comparada con los adultos, aunque son pocos los datos de los que se dispone para esta cohorte poblacional. Durante la epidemia de SARS-CoV-1 en 2001-2002 el 0,01% de los menores de 18 años se infectaron, siendo casos leves y sin fallecidos (106). Del total de pacientes confirmados con infección por MERS-CoV desde 2012, solo el 0,01% han sido niños, de los cuales el 42% no manifestaron síntomas (106). Respecto al SARS-CoV-2, puede afectar a todas las edades pediátricas con una mayor prevalencia entre los 6 y 14 años (21-25%). Aun

así, en general, la gravedad es menor comparada con los adultos. Los niños infectados con SARS-CoV-2 suelen permanecer asintomáticos o con clínica leve y solo se han reportado algunos casos fatales en pacientes con enfermedades crónicas y en pacientes con el síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico vinculado a la infección por SARS-CoV-2 (106,107).

3.5.3 Clínica

La infección respiratoria de los hCoV estacionales puede ser de vías bajas o altas. En pacientes hospitalizados, las enfermedades asociadas a IRVB por hCoV más frecuentemente son bronquiolitis, neumonía y sibilancias agudas recurrentes (105). A parte de infecciones respiratorias, el hCoV-NL63 se ha asociado con laringitis, convulsiones febriles y enfermedad de Kawasaki. El hCoV-HKU1 se ha relacionado también con convulsiones febriles (100,103).

3.6 RINOVIRUS

3.6.1 Características

El RV es un virus (grupo IV de Baltimore) con un genoma ARN, lineal, monocatenario, y polaridad positiva, sin envuelta lipídica, que pertenece al género *Enterovirus*, familia *Picornaviridae*, orden *Picornavirales*. Se reconocen 3 especies de RV (A, B y C), en las que se describen más de 100 tipos diferentes, siendo el ser humano el principal huésped (108).

3.6.2 Epidemiología

En nuestro medio, el RV circula durante todo el año presentando dos picos de incidencia, uno en primavera y otro a principios de otoño. En hasta un 40% de los casos se presenta en codetección con otros virus respiratorios, siendo el VRS el más frecuente (109).

3.6.3 Clínica

El RV es el virus causante de más del 50% de las IRVA a nivel mundial, es el segundo virus implicado en la bronquiolitis (por detrás del VRS), el principal causante de sibilancias agudas entre los 12 y 24 meses de edad y se relaciona con agudizaciones asmáticas en niños y adultos. Los principales diagnósticos respiratorios en población pediátrica hospitalizada con RV son (por orden de frecuencia): sibilancias agudas recurrentes (50%), bronquiolitis (37%), IRVA (8%) y neumonía (4%). El RV está presente en el 60-80% de los casos de agudizaciones asmáticas (109–111).

Las sibilancias agudas por RV en la infancia son un factor de riesgo para desarrollar sibilancias recurrentes y asma en edades posteriores, sobre todo en pacientes con antecedentes de dermatitis atópica que sufren sibilancias agudas a edades precoces o en aquellos con sibilancias agudas que requieren hospitalización (110). Entre las diferentes especies, los RV-A y C son los más frecuentes. La infección por el RV-C, comparado con las otras especies, es la que presenta una mayor probabilidad de sufrir asma y desencadena agudizaciones asmáticas de mayor gravedad (111).

3.7 BOCAVIRUS HUMANO (o *Bocaparvovirus*)

3.7.1 Características

El hBoV se describió por primera vez en 2005, a partir del análisis mediante técnicas de diagnóstico molecular de muestras respiratorias en las que con las técnicas habituales (aislamiento en cultivo viral y/o inmunofluorescencia) no se habían detectado virus. Pertenece al género *Bocaparvovirus*, familia *Parvoviridae*, orden *Piccovirales*. Es un virus (grupo II de Baltimore) con genoma ADN lineal, monocatenario y sin envuelta lipídica. Se han descrito cuatro genotipos: 1, 2, 3 y 4. El genotipo 1 se detecta predominantemente en muestras respiratorias de pacientes con fiebre o clínica respiratoria. Los genotipos del 2 al 4 se han aislado en heces de pacientes con clínica de gastroenteritis aguda (112,113).

3.7.2 Epidemiología

El hBoV tiene una distribución mundial y en nuestra área geográfica circula durante todo el año con mayor predominio durante los meses de invierno y primavera.

La prevalencia en España de hBoV en muestras respiratorias es del 10% y en muestras de heces es del 9% (112). Se encuentra en codetección con otros virus en el 50-65% de los casos en muestras respiratorias, frecuentemente con VRS, y en el 60% de los casos en muestras de heces junto a rotavirus (114,115). Se detecta durante tiempo prolongado en muestras respiratorias (hasta 12 meses después de la infección), y hasta un 50% de los pacientes se mantienen asintomáticos en el momento del diagnóstico. Esto, sumado a las elevadas tasas de codetección, pone en duda el papel patogénico del virus a nivel respiratorio, aunque se han descrito casos de infecciones virales donde el único agente etiológico aislado ha sido el hBoV (113,115,116).

3.7.3 Clínica

El genotipo 1 de hBoV es el que se relaciona con síntomas respiratorios, y el que más se detecta en muestra respiratoria, siendo del que hablaremos a continuación. Se transmite por vía respiratoria y se ha detectado en el 0,7-25% de los niños con IRVA y en el 0,8-23% de los casos de IRVB. La clínica respiratoria se presenta con IRVA, bronquiolitis, sibilancias agudas o neumonía. Se ha descrito que hasta el 11% de las IRVB requieren ingreso en UCI, principalmente por sibilancias agudas por hBoV y bronquiolitis por hBoV en codetección con VRS. La infección a edades tempranas parece aumentar el riesgo de sibilancias agudas recurrentes y asma (65,112,115).

3.8 VIRUS PARAINFLUENZA HUMANOS

3.8.1 Características

Los hPIV son virus (grupo V de Baltimore) con un genoma ARN, lineal, monocatenario, polaridad negativa, y con envuelta lipídica que pertenecen a la familia *Paramyxoviridae*, orden *Mononegavirales*. Se conocen 4 especies que se agrupan en

dos géneros, hPIV-1 y hPIV-3 en el género *Respirovirus*, y hPIV-2 y hPIV-4 en el género *Orthorubulavirus* (117).

3.8.2 Epidemiología

La especie predominante de hPIV varía según la temporada, y la estacionalidad descrita de cada uno de ellos es diferente. Los hPIV 1-2 tienen una circulación predominante en los meses de otoño, mientras los hPIV 3-4 predominan en primavera con un pico de incidencia durante el mes de marzo (71).

Afectan predominantemente a población entre los 3 meses y los 5 años, siendo los niños entre 1 y 2 años los más afectados. En el 30% de los casos se presenta en codetección con otros virus respiratorios, más frecuentemente con RV y VRS (71,117,118).

3.8.3 Clínica

Los hPIV son causantes de IRVA, laringitis e IRVB en forma de neumonía, sibilancias agudas, agudizaciones asmáticas o bronquiolitis. La laringitis es más prevalente en pacientes infectados por hPIV-1 y 2. Los hPIV-3 y 4 son los que más se asocian a síntomas de IRVB y los principales responsables de la hospitalización de estos pacientes (71,117).

3.9 ENTEROVIRUS

3.9.1 Características

Los EV inicialmente se clasificaban según la patogenia. Con la mejoría de las técnicas moleculares la clasificación inicial ha sido adaptada y actualmente se basa en las características genéticas y antigénicas. Pertenecen al género *Enterovirus*, dentro de la familia *Picornaviridae*, orden *Picornavirales*, y junto con los RV A, B y C, los EV A-D son considerados los EV que sólo infectan a los humanos. Otros EV (E-L) son causa de infección en animales. Son virus (grupo IV de Baltimore) con un genoma ARN, lineal, monocatenario y polaridad positiva, sin envuelta lipídica (108,119). En la tabla

siguiente se especifican, según la especie, los tipos de EV que producen patología en humanos (adaptada de Lugo et al.) (120):

Especie de EV	Tipos
A	Coxsackievirus (CV) A2–8, 10, 12, 14, 16; EV-A71, A76, A89, A90, A91, A114, A119, A120, A121
B	CV B1–6, A9; echovirus (E) 1–7, 9, 11–21, 24–27, 29–33; EV B69, 73–75, 77–88, 93, 97, 98, 100, 101, 106, 107 y 111
C	CV A1, 11, 13, 17, 19, 20, 21, 22, 24; EV C95, 96, 99, 102, 104, 105, 109, 113, 116–118 Poliovirus (PV) 1–3
D	EV D68, D70, D94, D111

Tabla 6. Especies y tipos de EV capaces de producir enfermedad en humanos (extraída de Lugo et al.) (120)

3.9.2 Epidemiología

La circulación de los EV es estacional, predominando en los meses de primavera y verano (16). Los EV causan más de 10 millones de infecciones y cientos de hospitalizaciones en Estados Unidos anualmente y son uno de los virus que más frecuentemente se asocia con patología en el humano (121). Según un estudio realizado en Noruega, el 40% de los menores de un año y el 90% de los menores de dos años ha sufrido una infección por EV. En menores de 3 meses la incidencia varía en función de la estación del año, desde un 3,2% en enero hasta un 50% a finales de verano-otoño (122).

3.9.3 Clínica

La transmisión de EV se produce por vía respiratoria o fecal-oral. El espectro clínico de la infección es muy variado y va desde infecciones respiratorias y gastrointestinales leves, herpangina o enfermedad boca-mano-pie (BMP) hasta infecciones graves como hepatitis, miopericarditis, pleurodinia, pancreatitis, meningitis, encefalitis, parálisis flácida aguda, sepsis neonatal o insuficiencia respiratoria aguda grave (122).

En los últimos años, se han descrito brotes de enfermedades debidas a la infección por algunos tipos de EV. Según la especie y los síntomas, los brotes más relevantes han sido:

1. EV-A: Los EV del grupo A causan enfermedad BMP, sobre todo los tipos CV-A16, CV-A10, EV-A71 y CV-A6, siendo este último el principal causante de la enfermedad a nivel mundial. El EV-A71 ha sido el responsable de brotes de enfermedad BMP grave a nivel mundial, asociado a brotes de enfermedad neurológica grave. Los síntomas neurológicos por EV-A71 aparecen a los 3-5 días del inicio de la fiebre o de la clínica de BMP y se manifiestan en forma de rombencefalitis, con o sin insuficiencia cardíaca y respiratoria, parálisis flácida aguda o meningitis aséptica (108,123).
2. EV-B: Uno de los síntomas más frecuentes y graves de los EV-B es la parálisis flácida aguda. El E-11 es el que más se ha relacionado con esta enfermedad. El E-30 se ha descrito como el principal causante de meningitis viral y encefalitis en países templados como los europeos. Finalmente, los CV-B 1-6 se han relacionado con miocarditis (108).
3. EV-C: Los EV-C no-polio son el grupo que con menos frecuencia causa enfermedad en el humano, si bien es la especie con menos tipos de EV descritos. Por su parte, los PV-1, 2 y 3, a pesar de estar erradicados en la mayoría de países, en la zona central de Asia son endémicos y una causa importante de parálisis fláccida aguda (108).
4. EV-D: Las infecciones por esta especie de EV eran poco frecuentes antes del 2012. A partir de este momento, el EV-D68 ha causado brotes bianuales de infección respiratoria aguda grave y parálisis flácida aguda en Estados Unidos, Europa, Sur América y Asia (108). Los síntomas respiratorios secundarios al EV-D68 pueden ser variados, desde clínica leve de faringitis, bronquiolitis o sibilancias agudas hasta síntomas graves de neumonía e insuficiencia respiratoria aguda requiriendo los pacientes hospitalización y ventilación mecánica invasiva (121).

3.10 CODETECCIONES VIRALES

La amplia utilización de técnicas moleculares en el diagnóstico microbiológico de las infecciones respiratorias virales, más sensibles y con capacidad para multiplexar, permite codetectar más de un virus en las muestras estudiadas. Sin embargo, el verdadero papel patogénico de estas codetecciones, y como éstas contribuyen a una menor o mayor gravedad de la infección respiratoria es aún un tema controvertido. Las técnicas moleculares confirman la presencia del material genético viral, pero no demuestran su viabilidad.

A nivel del huésped, cuando hay infección por más de un virus es posible que se produzca un fenómeno llamado interferencia viral, en el que un virus puede inhibir la replicación del otro, quizás por una activación de la respuesta inmunitaria innata mediada por interferón (124). En modelos animales se ha visto que células infectadas inicialmente por RV, si a las 48 horas se les inocula virus de la gripe, esta segunda infección se atenúa siendo entonces más leve (125). La interacción entre virus con velocidades de replicación diferentes también puede condicionar interferencia al inhibir los de más rápida replicación a los que replican más lentamente. La coinfección de virus que comparten receptores celulares o mecanismos de replicación también pueden generar entre ellos competencia (124).

A nivel de gravedad de los síntomas, los estudios clínicos muestran resultados variables, siendo éstos no concluyentes. La mayoría de los estudios muestran una mayor gravedad en los casos de codetección, pero solo se observan diferencias significativas en la gravedad en algunos marcadores de evolución, que suelen ser diferentes entre los estudios. El estudio de Richard et al., que incluyó menores de 1 año ingresados en UCI con el diagnóstico de bronquiolitis, concluyó que los pacientes con codetección viral tenían mayor riesgo de ingreso en UCI, aunque una vez en UCI no se vieron diferencias en la evolución comparado con los pacientes sin codetección (126). En cambio, en el estudio de Mansbach et al., que estudió pacientes menores de 24 meses hospitalizados con bronquiolitis, los pacientes menores de 3 meses con codetección VRS-RV tenían mayor estancia hospitalaria a pesar de que otros marcadores como la necesidad de ingreso en UCI o de ventilación mecánica no

mostraron diferencias cuando se comparaba con pacientes sin codetección (127). Por otro lado, algunos estudios no demuestran diferencias en la gravedad, o incluso en otros la gravedad en pacientes con codetección viral es menor (128,129).

4. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO VIRAL

El diagnóstico y la gravedad de las infecciones respiratorias se establece mediante criterios clínicos. Sin embargo, disponer de una técnica que confirme la etiología viral de estas infecciones permite orientar el manejo del paciente, de manera que es posible disminuir la utilización de antibióticos, facilita la administración de tratamientos antivirales específicos como el oseltamivir para la gripe, reduce el número de pruebas de laboratorio o radiológicas, y permite prever las consecuencias a largo plazo de una primera infección respiratoria viral.

Desde la perspectiva de salud pública, el diagnóstico virológico permite además llevar a cabo una vigilancia epidemiológica de los virus respiratorios. Si además de las técnicas de detección disponemos de técnicas de caracterización, antigénicas o por secuenciación, es posible incluso estudiar la diversidad genética de los virus respiratorios, asociar esta diversidad a la gravedad clínica, estudiar la sensibilidad a los antivirales o facilitar el desarrollo de vacunas y de otras medidas preventivas o de tratamiento.

Desde que en el siglo XX los primeros virus respiratorios fueron descritos, los laboratorios han trabajado en desarrollar y mejorar las técnicas de diagnóstico viral para permitir una mayor sensibilidad en la detección, reducir los tiempos de respuesta, adquirir mayor capacidad para *multiplexar* y para automatizar y así poder procesar un mayor número de muestras, reduciendo posibles errores metodológicos o humanos, ganar trazabilidad y reducir los costes asociados.

El diagnóstico microbiológico de las infecciones respiratorias virales suele realizarse a partir de muestras respiratorias de vías altas (aspirado nasofaríngeo, frotis nasofaríngeo o frotis orofaríngeo) o de vías bajas (esputo, aspirado traqueal, lavado broncoalveolar o lavado bronquial selectivo) y mediante diferentes técnicas de laboratorio que se presentan a continuación.

4.1 AISLAMIENTO VIRAL EN CULTIVO CELULAR

El cultivo celular es una técnica *in vitro* que durante años ha permitido aislar en una monocapa celular de una o más líneas celulares los virus presentes de forma viable en una muestra biológica. Estos se pueden detectar e identificar de forma directa a partir de la observación microscópica de un efecto citopático específico o bien indirectamente aplicando métodos fenotípicos.

La inoculación de virus viables en cultivos de líneas celulares susceptibles a la infección produce efectos citopáticos, resultado de una replicación viral activa, los cuales pueden llegar a ser diferentes según el virus inoculado, siendo para algunos virus suficientemente característico. El efecto citopático puede observarse en el microscopio óptico y permite una primera aproximación para detectar la presencia de virus en la muestra. En las infecciones por virus que expresan hemaglutinina, como los virus de la gripe, los hPIV o el virus de la parotiditis, el efecto citopático puede ser lento o poco específico. En estos casos, una vez identificado un cultivo celular positivo, la confirmación virológica se realiza mediante la caracterización de partículas virales, antígenos o ácidos nucleicos a partir de técnicas como la inmunofluorescencia o técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos (130).

Ya que los cultivos celulares requieren que el virus sea viable para poderlo aislar *in vitro*, es crucial asegurar una buena conservación de la muestra desde la recogida hasta su procesamiento. Además, antes de la inoculación de la muestra en el cultivo celular, ésta se debe descontaminar con el fin de eliminar otros microorganismos presentes y que podrían interferir en la replicación o viabilidad de la monocapa celular. Son pruebas laboriosas, que requieren de personal entrenado y que no permiten disponer de un diagnóstico rápido, por lo que estas técnicas han desaparecido de la mayoría de los laboratorios de rutina, pero se siguen utilizando en los laboratorios de referencia (130,131).

Es importante destacar que algunos virus causantes de infección en el huésped humano replican con dificultad, de forma lenta o no se pueden aislar en cultivos celulares. Además, algunos virus requieren líneas celulares no siempre disponibles para los laboratorios de rutina, hecho que además limita su uso para el diagnóstico. El

cultivo celular ofrece una sensibilidad aceptable para los virus de la gripe, el VRS, algunos RV o los hPIV. Contrariamente, los RV-C, algunos CV del grupo A o los hCoV no replican o lo hacen con dificultad en los cultivos celulares (130,131).

En nuestro medio, el cultivo celular tiene un papel importante a nivel de salud pública e investigación, ya que nos permite hacer aislamiento viral para posteriormente aplicar técnicas fenotípicas que nos permita estudiar la susceptibilidad a los antivirales, identificar cepas virales o conocer sus características antigénicas.

4.2 TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE ANTÍGENOS (INMUNOFLUORESCENCIA)

Las técnicas de inmunofluorescencia se basan en la detección de antígenos virales en muestras biológicas. Sin embargo, una de las grandes limitaciones de estas técnicas es la sensibilidad. Para poder detectar patógenos virales debe haber antígenos virales en cantidad suficiente, lo que suele ocurrir los primeros días de las infecciones respiratorias, cuando la carga viral es mayor. Así, la sensibilidad disminuye sustancialmente a partir del quinto día después del inicio de los síntomas (130,131). Esta técnica además se puede utilizar para estudiar o confirmar en un cultivo viral la positividad de una línea celular infectada después de observar un efecto citopático, sea inespecífico o específico.

Las técnicas antigénicas basadas en inmunofluorescencia, acompañadas de un equipo que permita una lectura objetiva de la fluorescencia, permite ganar sensibilidad frente a los métodos antigénicos basados en inmunocromatografía. Respecto al cultivo, ofrece una mayor rapidez, pero una menor sensibilidad, excepto para aquellos virus que crecen con dificultad en los cultivos celulares (131).

4.3 TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Las técnicas de diagnóstico molecular se empezaron a utilizar a partir de los años 2000. Desde entonces se han ido perfeccionando para aumentar la sensibilidad, la rapidez, el multiplexado y su automatización. La detección viral se realiza directamente a partir del material genético extraído y purificado de muestras

biológicas o cultivos celulares infectados. Se realiza mediante la amplificación específica de ácidos nucleicos ya sea por reacción en cadena de la polimerasa o reacciones isotérmicas, con oligonucleótidos específicos y complementarios a la región de interés (*primers* o cebadores). Posteriormente, se detecta esta amplificación con sondas fluorescentes de ácidos nucleicos o por hibridación (132).

A diferencia del cultivo viral, las técnicas de diagnóstico molecular tan solo detectan los virus para los que han sido diseñadas, pero permiten detectar aquellos virus que no son viables o replican con dificultad en cultivos celulares. Los paneles comerciales disponibles para el diagnóstico mediante RT-PCR de virus respiratorios permiten además la detección simultánea de los virus respiratorios más frecuentes (130).

Ofrecen una sensibilidad y especificidad superior al aislamiento en cultivo viral y a las técnicas de detección de antígenos y permiten detectar muchos más virus respiratorios que las técnicas no moleculares. La única limitación para el desarrollo de estos cebadores y sondas específicos es disponer de una secuencia genética del virus (131). Un inconveniente de las técnicas moleculares, comparado con el cultivo viral, es que no permite determinar la viabilidad del virus. Esto, sumado a la capacidad para detectar y amplificar pequeñas cantidades de material genético, que pueden estar presentes en la fase de convalecencia o persistir durante largos períodos de tiempo tras la infección aguda, hace que los resultados deban interpretarse con cautela y en concordancia con la clínica (130,131).

Las técnicas actuales basadas en RT-PCR no solo permiten ganar sensibilidad frente a las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo final, sino que además nos permite cuantificar en el caso de coamplificar muestras correspondientes a una recta patrón, aunque la correlación entre carga viral y evolución de la enfermedad es controvertida (132). A nivel clínico, las técnicas de diagnóstico molecular ofrecen mayor sensibilidad y menor tiempo de respuesta, y la utilidad del cultivo celular es limitada (133,134).

5. SISTEMAS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE VIRUS RESPIRATORIOS

En nuestro país, la vigilancia clínica, microbiológica y epidemiológica de las infecciones respiratorias agudas se está realizando a través del *Sistema de Vigilancia de Infección Respiratoria Aguda* (SIVIRA) en España (135) o el *Sistema d'Informació per a la Vigilància d'Infeccions de Catalunya* (SIVIC) (43), entre otros. A nivel europeo, esta tarea la realizan la *European Influenza Surveillance Network* (EISN) (136), coordinada por el *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) y, a nivel mundial, el *Global Influenza Surveillance and Response System* (GISRS) de la OMS (137). Estos sistemas centinela están diseñados básicamente para la vigilancia de los virus respiratorios a partir de pacientes atendidos en centros centinela de la atención primaria y hospitalizados, incluyendo datos epidemiológicos de pacientes atendidos y/u hospitalizados con sospecha de infección respiratoria aguda. Estos sistemas, además de hacer una vigilancia sindrómica, también aportan información sobre el patrón geográfico y temporal de las infecciones respiratorias agudas y de los virus respiratorios que las causan. A nivel virológico, ayudan a describir la incidencia de todos los virus respiratorios o de los más conocidos, su estacionalidad, su diversidad genética y antigénica, su virulencia y la susceptibilidad a los antivirales.

Para mejorar la vigilancia hospitalaria pediátrica de VRS en Cataluña, a partir de la temporada 2015-2016 comenzó a funcionar la *Red de Vigilancia Hospitalaria de VRS en Cataluña*, en la que colaboraron durante la última temporada 2021-2022 hasta 14 hospitales pediátricos catalanes (138). En los informes de esta red se describían los datos demográficos, virológicos y clínicos de las infecciones por VRS en pacientes hospitalizados menores de 2 años. La información se recogía en el momento de la notificación del caso y no permitía disponer de datos de evolución como la duración de la estancia hospitalaria, en UCI (excepto en aquellos casos que en el momento de la notificación estaban ingresados en UCI) o la necesidad de soporte respiratorio. En la temporada 2022-2023, los datos aportados por el SIVIC han sustituido los informes de la *Red de Vigilancia Hospitalaria de VRS en Cataluña*.

*JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS DE TRABAJO Y
OBJETIVOS*

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

1. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones respiratorias virales están asociadas a una importante morbimortalidad en pediatría. Causan un elevado número de consultas en los centros de atención primaria y urgencias, ingresos hospitalarios, absentismo laboral de los progenitores y en la escuela de los hijos, suponiendo una carga importante para el sistema nacional de salud, para las familias y para los recursos disponibles. Entre la población pediátrica, el grupo de edad más susceptible son los menores de 5 años, sobre todo durante los meses de otoño e invierno coincidiendo con las epidemias anuales de VRS y de gripe.

Durante los últimos años, la introducción en el diagnóstico de laboratorio de técnicas moleculares como la RT-PCR ha permitido mejorar la sensibilidad y detectar un mayor número de virus respiratorios. Sin embargo, la literatura existente se ha centrado en estudiar la morbimortalidad y características clínicas de las IRVB por el VRS o los virus de la gripe, y en menor medida el hMPV, en el paciente pediátrico hospitalizado, pero existe poca información sobre la carga de enfermedad de cada uno de los virus respiratorios en el paciente pediátrico hospitalizado.

Entre los virus respiratorios que podemos confirmar en el laboratorio, el VRS es de los que se asocia a mayor morbimortalidad en la población pediátrica, sobre todo secundaria a la bronquiolitis. Además de varios factores identificados del huésped que aumentan la gravedad de la bronquiolitis por VRS tales como la edad menor de 6 meses o la presencia de enfermedades crónicas, también se están estudiando los factores virales asociados a gravedad, ya que un porcentaje importante de los pacientes que requieren ingreso son previamente sanos. El subgrupo genético de VRS (A o B) podría ser un factor relacionado con esta gravedad.

Desde el punto de vista terapéutico, hasta la fecha no se ha comercializado ningún fármaco antiviral que modifique la evolución de la bronquiolitis por VRS. Tampoco existe una vacuna que prevenga la infección o atenúe los síntomas. Tratamientos sintomáticos como el salbutamol o la adrenalina nebulizados, o los corticoides sistémicos no han demostrado modificar la evolución de la bronquiolitis y las guías de práctica clínica publicadas entre 2014 y 2015 no recomiendan su uso en esta enfermedad. En la actualidad, el único tratamiento recomendado es el de soporte, manteniendo una buena oxigenación e hidratación y manteniendo las fosas nasales libres de mucosidad. Tratando de adaptarse a estas recomendaciones, el protocolo diagnóstico-terapéutico de la bronquiolitis del Hospital Infantil Vall d'Hebron (HIVH) creado en 2010 se actualizó en 2015, pero estaba pendiente poder evaluar su impacto en la práctica clínica.

Más allá del ámbito asistencial, en el ámbito de salud pública existen sistemas de vigilancia epidemiológica de las infecciones respiratorias de etiología viral orientados tradicionalmente a los virus de la gripe, y durante los últimos años, al SARS-CoV-2. Estos sistemas aportan una información muy limitada del paciente pediátrico y centrada en la bronquiolitis en el paciente atendido en atención primaria, pero no aportan información suficiente para conocer la epidemiología, clínica y gravedad de cada una de las infecciones respiratorias virales y de los virus causantes en el paciente hospitalizado.

Este estudio pretende analizar la morbimortalidad asociada a la hospitalización para cada virus respiratorio en nuestra área geográfica pudiendo describir la estacionalidad, clínica, gravedad y coste de las IRVB virales. Se han estudiado los virus respiratorios clásicos, excluyendo el SARS-CoV-2, al ser un virus no presente durante los primeros años del estudio. Para mejorar el conocimiento de una de las IRVB virales más frecuente en población pediátrica en nuestro medio, la bronquiolitis por VRS, se comparará la gravedad de la bronquiolitis por VRS-A con la producida por VRS-B para ver si el subgrupo genético de VRS influye en la evolución de la enfermedad. Por último, se revisará si el diagnóstico y tratamiento de las bronquiolitis hospitalizadas en el HIVH se adapta al protocolo interno del hospital del año 2015.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Las infecciones respiratorias virales son una de las principales causas de hospitalización en la población pediátrica. Pero entre los diferentes virus respiratorios que las pueden causar, la epidemiología, la estacionalidad, la clínica, la gravedad y los recursos sanitarios consumidos serán diferentes. Estudiar estas variables en el HIVH durante un periodo largo de tiempo permitirá conocer la carga hospitalaria de cada uno de estos virus y debería mejorar nuestra capacidad de respuesta y de atención al usuario y a la comunidad en el futuro.

De entre las infecciones respiratorias virales que son de mayor interés en pediatría, la bronquiolitis por VRS es la principal causa de hospitalización en menores de 2 años. Más allá de los factores del huésped que se pueden asociar a gravedad, también podemos encontrar factores virales. Ya que los dos subgrupos de VRS (A o B) presentan diferencias a nivel genético y antigénico, podría ser que también condicionaran de forma diferente la gravedad de la enfermedad que causan. A nivel del laboratorio, además de detectar el virus, de forma rutinaria también podemos determinar el subgrupo genético, esto nos permitirá estudiar el impacto de un subgrupo u otro en la gravedad, ya que disponer de esta información al inicio del episodio podría tener valor pronóstico.

A nivel terapéutico, los fármacos clásicamente utilizados para el tratamiento de la bronquiolitis (salbutamol, adrenalina, corticoides, etc.) no se recomiendan al no haberse podido probar su eficacia; así mismo, el diagnóstico es clínico y las exploraciones complementarias tienen unas indicaciones muy limitadas. Así, desde la publicación de las guías de práctica clínica de la bronquiolitis de la AAP (2014) y de la NICE (2015) los estudios han demostrado una progresiva adaptación de los clínicos a las últimas recomendaciones, una evaluación que es necesario hacer en nuestra institución para conocer el grado de adherencia a estas recomendaciones adaptadas en 2015 al protocolo de bronquiolitis del HIVH.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS PRINCIPALES

1. Estudiar la epidemiología, estacionalidad, clínica, gravedad y consumo de recursos sanitarios hospitalarios de las IRVB causadas por los virus respiratorios clásicos entre 2012 y 2020.
2. Determinar si el subgrupo genético de VRS (A o B) es un factor condicionante de la clínica y gravedad de la bronquiolitis.
3. Estudiar la adecuación del diagnóstico y tratamiento de la bronquiolitis por VRS al protocolo del Hospital Vall d'Hebron de 2015 y evaluar si estas medidas se asocian a un cambio significativo en la evolución de los pacientes.

RESULTADOS

RESULTADOS

1. ESTUDIO 1

Título: The burden of non-SARS-CoV2 viral lower respiratory tract infections in hospitalized children in Barcelona (Spain): a long-term, clinical, epidemiologic and economic study

Año de publicación: 2023

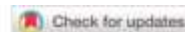
Revista: Influenza and Other Respiratory Viruses

Factor de impacto (2022): 5,606

Cuartil (2022): Q1

Posición en la bibliografía de esta tesis: (139)

Referencia: Vila J, Lera E, Andrés C, Piñana M, Rello-Saltor V, Tobeña-Rué M, et al. The burden of non-SARS-CoV2 viral lower respiratory tract infections in hospitalized children in Barcelona (Spain): A long-term, clinical, epidemiologic and economic study. Influenza Other Respir Viruses. 2023;17(1):e13085



Received: 21 September 2022 | Revised: 22 November 2022 | Accepted: 23 November 2022

DOI: 10.1111/irv.13085

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

The burden of non-SARS-CoV2 viral lower respiratory tract infections in hospitalized children in Barcelona (Spain): A long-term, clinical, epidemiologic and economic study

Jorgina Vila^{1,2,3} | Esther Lera^{2,4} | Cristina Andrés⁵ | María Piñana⁵ |
Victoria Rello-Saltor¹ | Marc Tobeña-Rué^{1,2} | Joan Balcells^{2,6} |
Zaira Benítez-Díaz^{7,8} | Marta Beatriz Aller^{7,8} | Rosario Muñoz^{7,8} | Ana Vázquez⁹ |
Carlos Rodrigo^{2,10,11} | Pere Soler-Palacín^{2,3,12}  | Andrés Antón⁵

¹Paediatric Hospital Medicine, Department of Paediatrics, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

²Department of Paediatrics, Obstetrics and Gynecology, Preventive Medicine and Public Health, Faculty of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

³Infection in Immunocompromised Paediatric Patients, Vall d'Hebron Research Institute, Barcelona, Spain

⁴Paediatric Emergency Unit, Department of Paediatrics, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

⁵Respiratory Viruses Unit, Virology Section, Microbiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

⁶Paediatric Critical Care Unit, Department of Paediatrics, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

⁷Department of Information Systems and Decision Support, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

⁸Health Services Research Group, Vall d'Hebron Research Institute, Barcelona, Spain

⁹Department of Applied Statistics, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

¹⁰Department of Paediatrics, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain

¹¹Germans Trias i Pujol Research Institute, Barcelona, Spain

¹²Paediatric Infectious Diseases and Immunodeficiencies Unit, Department of Paediatrics, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

Correspondence

Pere Soler-Palacín, Department of Paediatrics, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, Barcelona 08035, Spain.
Email: pere.soler@vallhebron.cat

Funding information

Health Research Fund, the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness, Grant/Award Numbers: FIS PI18/00685, FIS PI14/01838; Spanish Network for Research in Infectious Diseases, Grant/Award Number: REIP RD16/0016/0003; Spanish National R + D + I Plan 2008-2011; Carlos III Health Institute; European Regional Development Fund; Sanofi

Abstract

Background: Viral lower respiratory tract infections (LRTI) are the leading cause of hospitalization in children. In Catalonia (Spain), information is scarce about the burden of viral LRTIs in paediatric hospitalizations. The aim of this study is to describe epidemiological, clinical, virological and economic features of paediatric hospitalizations due to viral LRTI.

Methods: From October 2012 to December 2020, children aged <16 years admitted to a tertiary paediatric hospital in Catalonia (Spain) with confirmed viral LRTI were included in the study. Virus seasonality, prevalence, age and sex distribution, clinical characteristics, hospital costs and bed occupancy rates were determined.

Results: A total of 3,325 children were included (57.17% male, 9.44% with comorbidities) accounting for 4056 hospitalizations (32.47% ≤ 12 months); 53.87% with wheezing/asthma, 37.85% with bronchiolitis and 8.28% with pneumonia. The most common virus was respiratory syncytial virus (RSV) (52.59%). Influenza A was

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2022 The Authors. *Influenza and Other Respiratory Viruses* published by John Wiley & Sons Ltd.

associated with pneumonia (odds ratio [OR] 7.75) and caused longer hospitalizations (7 ± 31.58 days), while RSV was associated with bronchiolitis (OR 6.62) and was the most frequent reason for admission to the paediatric intensive care unit (PICU) (11.23%) and for respiratory support (78.76%). Male sex, age ≤ 12 months, chronic conditions and bronchiolitis significantly increased the odds of PICU admission. From October to May, viral LRTIs accounted for 12.36% of overall hospital bed days. The total hospitalization cost during the study period was €16,603,415.

Conclusions: Viral LRTIs are an important cause of morbidity, hospitalization and PICU admission in children. The clinical burden is associated with significant bed occupancy and health-care costs, especially during seasonal periods.

KEYWORDS

cost of illness, global burden of disease, hospitalization, respiratory tract infections, viruses

1 | INTRODUCTION

Viral lower respiratory tract infections (LRTI) are an important cause of morbimortality and hospital admissions in children, especially in the population aged under five years.¹ The most common LRTIs in children are bronchiolitis, community acquired pneumonia (CAP), wheezing and asthma exacerbation.^{2–4}

Bronchiolitis is a viral infection with an annual incidence of 5.2/100 in children under six months of age in Spain, and an annual hospitalization incidence of 2.1 cases/100 children per year.² It is responsible for up to 13.5% of paediatric intensive care unit (PICU) admissions during the winter months.⁵ The main etiological agent of bronchiolitis is the respiratory syncytial virus (RSV), followed by the rhinovirus (RV).⁵ CAP is also a major cause of illness in children in developed countries. A virus is identified in 43–67% of cases of CAP, with RV, RSV, and influenza viruses being the main culprits worldwide.² Finally, 30–50% of children suffer one episode of wheezing before school age, and 30–40% present recurrent episodes. Asthma is the leading cause of chronic disease worldwide, with a prevalence of 10% in Western Europe.⁴ Both diseases can be triggered by viral infection, with RV being the most common etiological agent, followed by RSV.⁴

The introduction of molecular testing as standard laboratory practice to determine the presence RSV, influenza, and other respiratory viruses has led to a better understanding of the burden of viral LRTIs in hospitalized children. Interest in respiratory viral infections has been heightened during the COVID-19 pandemic; however, there is scant information about the surveillance of respiratory viruses other than RSV, influenza, and severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) in hospitalized paediatric patients. Viral LRTIs are not only interesting from a microbiological and clinical perspective, they also impact hospital bed occupancy rates and health-care costs, and data on the latter can help hospital managers plan the distribution of their resources during annual epidemics. In this study, we analyse the demographic, clinical, and viral characteristics of LRTIs together with the cost of paediatric hospitalizations due to viral LRTI other than SARS-CoV-2 in a referral hospital in Southwestern Europe

in order to improve understanding of the burden of viral LRTIs in hospitalized children.

2 | METHODS

2.1 | Study design and participants

This is a descriptive, observational, retrospective, longitudinal study performed from October 2012 (week 42) to December 2020 (week 50) in the Vall d'Hebron University Hospital in Barcelona (Spain), the largest hospital complex in the Catalan Health System, which is also a tertiary paediatric hospital catering for around 9,200 paediatric hospitalizations per year. The hospital has 16 PICU beds that can be increased to 20 during seasonal periods and 55 in general paediatric ward. This is the reference hospital for the population living in the northern part of Barcelona's metropolitan area, including 30,508 inhabitants under 15 years old (2.68% of Catalan population under 15 years). Moreover, it is also the main paediatric hospital in Catalonia for patients requiring PICU care or solid organ transplant as well as for patients suffering from oncohematologic diseases or some forms of rare diseases being the population covered actually higher than the above-mentioned.

All consecutive paediatric patients (<16 years old) with laboratory-confirmed viral LRTI other than SARS-CoV-2 who required hospitalization during the study period were included. Respiratory samples for laboratory confirmation were collected within 3 days before and 2 days after admission. The reason for hospitalization was considered to be an LRTI if, according to the International Classification of Diseases ninth (ICD-9) or tenth (ICD-10) revision (Table S1), the main diagnosis was bronchiolitis (466, J21), CAP (480, 483–488, J12, J16–J18, J09–J11), wheezing, or asthma exacerbation (466, 493, J20, J45), or the main diagnosis was influenza (487, 488, J09–J11), respiratory failure (518, J96) or neonatal infection (771, P28, P39, P96) with a secondary diagnosis of bronchiolitis, CAP, wheezing or asthma exacerbation.

Patients that met the inclusion criteria were classified in three groups according to the main clinical diagnosis: bronchiolitis—defined as the first episode of viral LRTI in an infant aged under 2 years as per our local protocol,⁶ CAP and wheezing/asthma.

2.2 | Variables analysed

Demographical and clinical data were retrospectively gathered from structured data in each patient's electronic clinical record by the Hospital Information Systems. These data included: main and secondary diagnosis, respiratory viruses detected, age, sex, date of hospitalization and discharge, admission to the PICU, and if so, date of admission and discharge, need for respiratory support and maximum support administered (conventional oxygen, high flow nasal cannula, or non-invasive mechanical ventilation (HFNC/NIMV), invasive mechanical ventilation (IMV) and extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) (Table S2). All the information was uploaded to a codified database.

Hospitalization cost was based on the prices established by our hospital and calculated based on 2021 fares: €615 per day in the paediatric ward and €2,350 per day in the PICU (internal data from the Catalan Health System data). Surveillance seasons lasted from week 40 in October to week 20 in May.

2.3 | Procedures

Respiratory tract specimens were collected within 3 days prior to admission for LRTI from all emergency department patients with symptoms of respiratory infection. Thereafter, respiratory specimens were taken within two day of admission to the paediatric ward or the PICU. Samples were processed in the hospital microbiology laboratory within 24 hours for routine testing, and within six hours for rapid detection tests for influenza viruses and RSV. From October 2012 to May 2016, detection of respiratory viruses was routinely performed by direct immunofluorescent antigen detection assay (D3 Ultra 8™ DFA Respiratory Virus Screening & Identification Kit, Diagnostic HYBRIDS, USA), which detects influenza A (FLUAV) and B (FLUBV), RSV, adenovirus (AdV), human parainfluenza viruses 1–3 (HPIV 1–3) and human metapneumovirus (HMPV). From October 2014 to November 2016, real-time multiplex RT-PCR—first, the Anyplex™ II RV16 Detection kit (Seegene, South Korea), which was later replaced by the Allplex™ Respiratory Panel (Seegene, South Korea)—was included for routine testing for the foregoing respiratory viruses in addition to HPIV-4, bocavirus (BoV), enterovirus (EV), RV, and human coronaviruses (hCoV) NL63, OC43 and 229E. Rapid RSV and influenza testing during epidemics was performed using an immunofluorescent assay (Sofia RSV or Influenza FIA, Quidel, CA, USA) or a rapid molecular test (GeneXpert Flu or Flu/RSV XC, Cepheid, CA, USA). If the rapid test was negative, the study was extended to include other respiratory viruses that were detected using routine testing techniques.

2.4 | Statistical analysis

Continuous variables are described as mean and standard deviation (SD) and categorical variables as frequencies and proportions. Contingency tables were used to analyse the relationship between two qualitative variables, and chi-square tests were used to assess associations. The Kruskal Wallis test was used to analyse the relationship between quantitative and qualitative variables. A logistic regression model was used to characterize the response variables, and the results were presented as an odds ratio (OR) with the corresponding 95% confidence interval (95% CI). A multivariate logistic regression model was used to determine the risk factors associated with PICU admission. In all models, pair-wise comparisons were performed using Tukey correction for multiple comparisons. The significance level was set at 0.05 for all tests. The results were analysed using SAS v9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3 | RESULTS

During the study period, 29,511 children aged <16 years were admitted from the paediatric emergency department, 4,056 (13.74%) with a diagnosis of viral LRTI. The LRTI episodes corresponded to 3,325 children, of whom 1,317 (32.47%) were under 12 months of age, 1,902 (57.20%) were male, 314 (9.44%) had a history of chronic disease, and 146 (3.60%) were immunocompromised. Four (0.10%) patients died.

In total, 4,753 viruses were isolated from the 4,056 patients with viral LRTI (≥2 viruses were detected in 565 patients). Age distribution of LRTI and the viruses isolated are shown in Table 1. The most common virus causing LRTI was RSV, which was detected in 2,133 (52.59%) children, followed by RV (1,210 [29.83%]), and HMPV (341 [8.41%]). Among the 84 hCoV diagnoses, 12 corresponded to hCoV-229E, 28 to hCoV-NL63, and 44 to hCoV-OC43. Of the 255 HPIV diagnoses, 39 were HPIV-1, 9 HPIV-2, 149 HPIV-3 and 58 HPIV-4. The most frequent co-detections were RSV-RV and AdV-RV (83/565 and 64/565, respectively) (Table S3). Hospitalization occurred during the surveillance seasons (from week 40 in October to week 20 in May) in 3,684 (90.82%) of study cases. According to clinical diagnosis, of the 4,056 patients hospitalized for viral LRTI, 2,185 (53.87%) presented wheezing/asthma, 1,535 (37.84%) bronchiolitis, and 336 (8.28%) CAP. Three-hundred and sixty patients with LRTIs (8.87%) required PICU admission, representing 7.89% of all patients admitted to the PICU during the study period. Overall, 333/360 (92.50%) were admitted during the surveillance seasons. One hundred and eighty children were admitted directly to the PICU from other centres. Of the four non-surviving patients, one died due to FLUAV CAP, two due to CAP caused by RSV in children with a history of neurologic comorbidities, and one due to RSV-related wheezing/asthma in a child with chronic lung disease.

Seasonal differences in the percentage of laboratory-confirmed cases were observed in FLUAV, AdV, RSV, RV ($p < 0.0001$ for each), FLUBV ($p = 0.0199$), HMPV ($p = 0.0006$), HPIV-3 ($p = 0.0037$), and BoV ($p = 0.0112$), especially during the 2020–2021 season when the

TABLE 1 Age distribution of PICU patients, LRTI, and isolated viruses

	Total (column)	≤12 months	12-24 months	>24 months-4 years	5-15 years	p value
Total (row), n (%)		1,317 (32.47%)	1,120 (27.61%)	1,117 (27.54%)	502 (12.38%)	
Number of PICU patients, n (%)	360	227 (63.06%)	79 (21.94%)	35 (9.72%)	19 (5.28%)	<0.0001
LRTI, n (%)						
Bronchiolitis	1,535	1,187 (77.33%)	348 (22.67%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	<0.0001
Wheezing/asthma	2,185	116 (5.31%)	712 (32.58%)	938 (42.93%)	419 (19.18%)	<0.0001
CAP	336	14 (4.17%)	91 (27.08%)	154 (45.83%)	77 (22.92%)	<0.0001
Virus, n (%)						
FLUAV	136	22 (16.18%)	42 (30.88%)	50 (36.76%)	22 (16.18%)	0.0009
FLUBV	53	10 (18.87%)	11 (20.75%)	19 (35.85%)	13 (24.53%)	0.0130
RSV	2,133	1,002 (46.98%)	583 (27.33%)	469 (21.99%)	79 (3.70%)	<0.0001
HMPV	341	104 (30.50%)	122 (35.78%)	92 (26.98%)	23 (6.74%)	0.0004
AdV	229	16 (6.99%)	91 (39.74%)	99 (43.23%)	23 (10.04%)	<0.0001
hCoV ^a	84	17 (20.48%)	19 (22.89%)	36 (43.37%)	11 (13.25%)	0.0097
RV	1,210	183 (15.12%)	279 (23.06%)	415 (34.30%)	333 (27.52%)	<0.0001
BoV	169	6 (3.55%)	93 (55.03%)	68 (40.24%)	2 (1.18%)	<0.0001
HPIV ^a	255	55 (21.74%)	80 (31.62%)	83 (32.81%)	35 (13.83%)	0.0041
EV	143	5 (3.50%)	50 (34.97%)	68 (47.55%)	20 (13.99%)	<0.0001

Abbreviations: AdV, adenovirus; BoV, bocavirus; CAP, community acquired pneumonia; EV, enterovirus; FLUAV, influenza A virus; FLUBV, influenza B virus; hCoV, human coronavirus; HMPV, human metapneumovirus; HPIV 1-4, human parainfluenza viruses 1-4; LRTI, lower respiratory tract infection; PICU, paediatric intensive care unit; RSV, respiratory syncytial virus; RV, rhinovirus.

^aOne patient with hCoV-229E and hCoVNL63 coinfection and 2 patients with hPIV-3 and hPIV-4 coinfection were only taken into account once.

annual FLUAV, FLUBV, RSV and HMPV epidemics were not observed, and RV and AdV were the main viruses circulating that season (Figure S1 and Table S4). Additionally, statistically significant differences were observed in the monthly trends of FLUAV, FLUBV, RSV, HMPV, AdV, RV, HPIV 3-4, and EV ($p < 0.0001$ for each) (Figure S2). During seasonal periods, RSV was the first virus to peak (in December), followed by FLUAV peaking in February, FLUBV in March, and HMPV between March and April.

Analysing the main clinical findings related to laboratory-confirmed LRTI cases for respiratory viruses (Table 2), we found that 3,068 (75.64%) of patients with LRTIs required respiratory support, of which 2,750 (89.63%) needed conventional oxygen supply, 234 (7.63%) HFNC/NIMV, 82 (2.67%) IMV, and 2 (0.07%) ECMO. The two cases requiring ECMO were a previously healthy four year-old girl with no disease history who presented severe pneumonia due to FLUAV-*Streptococcus pneumoniae* co-infection, and a 4 year old girl with severe neurologic sequelae due to a brain tumour who presented RSV CAP, which was ultimately fatal. FLUAV caused longer hospitalizations than the other viruses (7.51 ± 31.58 days, $p = 0.0077$). The highest proportion of patients needing admission to the PICU (241/2,133; 11.23%, $p < 0.0001$) and respiratory support (1,680/2,133; 78.76%, $p < 0.0001$) presented RSV infection. In contrast, RV-related disease was milder (length of stay [LOS]: 4.04 ± 9.45 days, $p = 0.0065$; PICU admission: 6.94% of patients, $p = 0.0057$).

To determine whether certain respiratory viruses were associated with specific LRTIs, we compared the number of patients who tested

positive for each virus with those that tested negative for that virus (Figure 1). FLUAV was associated with pneumonia (OR 7.75, 95% CI 5.24-11.49; $p < 0.0001$), RSV was associated with bronchiolitis (OR 3.57, 95% CI 3.13-4.17; $p < 0.0001$), and RV caused mainly wheezing/asthma (OR 3.58, 95% CI 3.07-4.18; $p < 0.0001$).

We also performed multivariate analyses to identify the host factors that increased the risk of PICU admission (Table S5): male sex (adjusted $p = 0.0048$), age ≤ 12 months (adjusted $p = 0.0002$ compared with 12-24 months), history of chronic conditions (adjusted $p < 0.0001$), and bronchiolitis (adjusted $p = 0.0004$). We were unable to confirm any correlation with viruses.

Our analysis of hospitalization costs showed that during surveillance seasons, viral LRTIs accounted for 12.36% of overall bed days (17,921/144,900), 14.39% of paediatric ward bed days (15,294/106,260) and 6.79% of PICU bed days (2,627/38,640). During the entire study period, total hospitalization costs were €16,603,415 (being only €92,930 attributable to the 2020-2021 season), with a cost per patient of €4,093.54 (Table S6).

4 | DISCUSSION

In this study, we reviewed the burden of viral LRTIs other than SARS-CoV-2 in children aged <16 years in one of the largest tertiary paediatric hospitals in Catalonia (Spain) from October 2012 to December 2020. Our results show that viral LRTIs are an important cause of morbidity and high healthcare costs in hospitalized children during

TABLE 2 Association between causative viruses and mean hospital LOS, PICU admission and respiratory support

	FLUAV	FLURV	RSV	HMPV	AdV	hCoV (OC-43, 229-E, and NL-63) ^a	RV	BoV	hPIV-1 (1-4) ^b	EV	p value ^c
Total	136	53	2133	341	229	83	1,210	169	253	143	
LOS Mean (SD) p value ^d	7.51 (31.58)	5.35 (3.57)	5.16 (12.51)	4.49 (3.32)	3.78 (3.41)	4.28 (4.75)	4.04 (9.45)	3.86 (5.07)	4.85 (6.07)	3.54 (2.7)	=0.0126
PICU admission, N (%) p value ^d	5 (3.68%)	4 (7.55%)	241 (11.23%)	21 (6.16%)	9 (3.93%)	8 (9.64%)	84 (6.94%)	16 (9.47%)	12 (4.74%)	11 (7.69%)	<0.0001
Respiratory support, N (%) p value ^d	97 (71.32%)	39 (73.58%)	1,480 (78.76%)	259 (75.95%)	155 (67.69%)	58 (69.88%)	905 (74.79%)	131 (77.51%)	161 (63.64%)	108 (75.52%)	<0.0001
Maximum respiratory support, p value ^e	0.0779	0.4517	0.0027	0.1533	0.2033	0.4129	0.2917	0.0139	0.5864	0.5180	
ECMO, N (%) ^f	1 (0.74%)	0	1 (0.05%)	0	0	0	0	0	0	0	
IMV, N (%) ^f	4 (2.94%)	0	51 (2.39%)	5 (1.47%)	3 (1.31%)	1 (1.20%)	25 (2.07%)	2 (1.18%)	3 (1.19%)	2 (1.4%)	
HFNC/NIMV, N (%) ^f	4 (2.94%)	2 (3.77%)	153 (7.17%)	12 (3.52%)	6 (2.62%)	8 (9.64%)	59 (4.89%)	11 (6.51%)	5 (1.98%)	7 (4.9%)	
O ₂ , N (%) ^f	88 (64.71%)	37 (69.81%)	1,475 (69.15%)	242 (71.00%)	146 (63.76%)	49 (59.04%)	821 (67.85%)	118 (69.82%)	153 (60.47%)	99 (69.23%)	

Abbreviations: AdV, adenovirus; BoV, bocavirus; ECMO, extracorporeal membrane oxygenation; EV, enterovirus; FLUAV, influenza A virus; FLURV, influenza B virus; hCoV, human coronavirus; HFNC/NIMV, high flow nasal oxygen/non-invasive mechanical ventilation; HMPV, human metapneumovirus; hPIV 1-4, human parainfluenza viruses 1-4; IMV, invasive mechanical ventilation; LOS, length of hospital stay; LRTI, lower respiratory tract infection; O₂, conventional oxygen; PICU, paediatric intensive care unit; RSV, respiratory syncytial virus; RV, rhinovirus; SD, standard deviation.

^aOne patient with hCoV-229E and hCoVNL63 coinfection and 2 patients with hPIV-3 and hPIV-4 coinfection were only taken into account once for the study of virus-related disease.

^bp values are calculated comparing positive cases of each virus.

^cp values are calculated comparing cases positive for each virus with those that tested negative for the virus studied.

^dFrom the total of each virus.

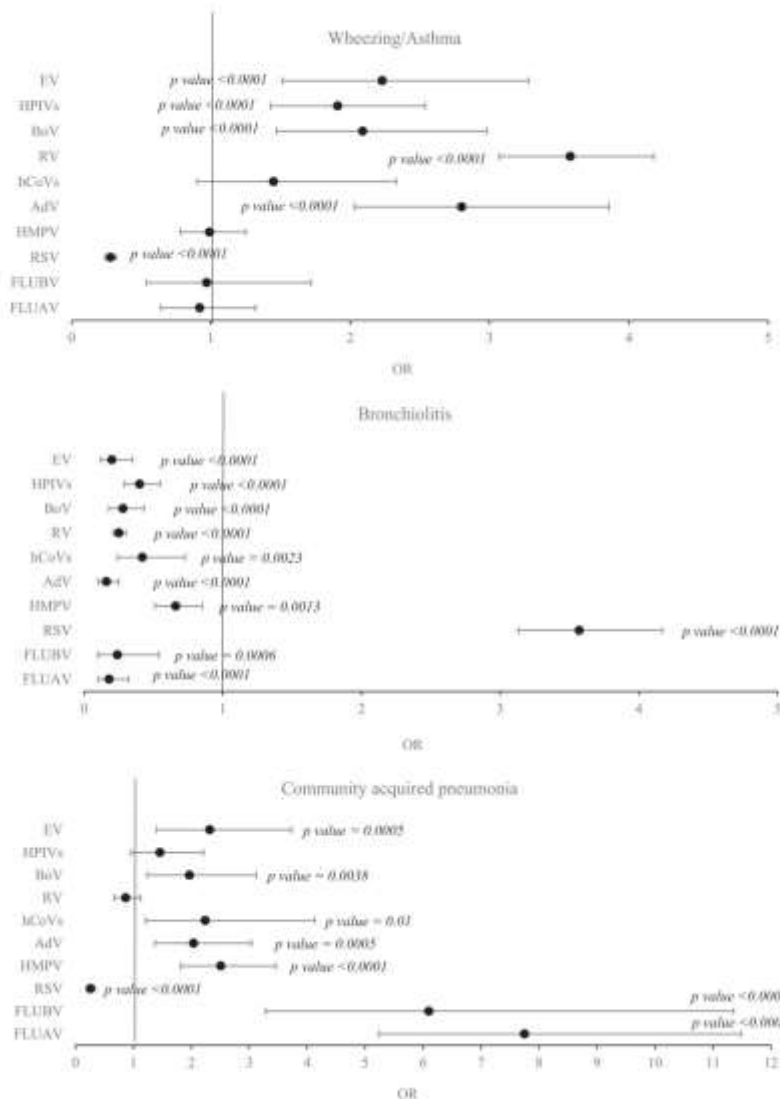


FIGURE 1 Association between causative viruses and related LRTIs (wheezing/asthma, bronchiolitis and community acquired pneumonia) expressed by OR and 95% CI. The OR is calculated by comparing the number of positive cases with those that tested negative for each virus. *p* value is only specified in statistically significant cases. AdV, adenovirus; BoV, bocavirus; 95CI, 95% confidence interval; EV, enterovirus; FLUAV, influenza A virus; FLUBV, influenza B virus; hCoVs, human coronaviruses; HMPV, human metapneumovirus; HPIVs, human parainfluenza viruses; LRTI, lower respiratory tract infection; OR, odds ratio; RSV, respiratory syncytial virus; RV, rhinovirus

seasonal periods, particularly in children aged <1 year, males, and in children with chronic conditions. Interestingly, 90% of study patients had no history of chronic conditions. An analysis by virus type showed that RSV was the main etiological agent.

RSV, RV, wheezing/asthma, and bronchiolitis were the most prevalent viruses and diseases during the study period; bronchiolitis increased the risk of requiring intensive care. As previously reported in the literature, and confirmed by our results, host factors such as male sex, younger age, and history of chronic conditions increase the severity of viral LRTIs, and therefore the likelihood of PICU admission.^{5,7}

Before the COVID-19 pandemic, the burden of respiratory viruses was particularly high during the winter months in temperate countries such as Spain due to the annual RSV, influenza, and HMPV epidemics.^{8–10} Differences in seasonal and monthly respiratory virus

trends described in our study can be explained by the interaction of environmental, host, and viral factors, in addition to the use of different laboratory diagnostic techniques.^{11,12} The interaction of the foregoing factors was particularly important during the first half of the 2020–2021 season, in which the introduction of non-pharmaceutical interventions and restrictions on international travel during the COVID-19 pandemic prevented the spread not only of SARS-CoV-2, but also of other respiratory viruses, particularly RSV and influenza viruses.^{8,10} Nevertheless, RV and AdV were still detected, probably because non-pharmaceutical interventions were not as effective in these non-enveloped viruses as in other respiratory viruses, including SARS-CoV-2.^{13,14}

In addition to the prevalence and seasonality of LRTIs, one of the most interesting factors to be considered is their burden in hospitalized children. According to the Global Burden of Diseases 2017, the

17529298, 0, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ir.12323 by Instituto de Estudios de la Salud, Wiley Online Library on [21/12/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

burden of LRTI in children aged <5 years was lower in pre-pandemic seasons due to improvements in hygienic and sanitary conditions and increased vaccine coverage.¹⁵ Nevertheless, our results show that viral LRTIs are still an important cause of morbidity in children. The few studies that have analysed the burden of LRTIs in paediatric hospitals have mainly focused on the most virulent viruses, such as RSV, influenza viruses, and HMPV.^{16–18} We, however, found that respiratory viruses other than RSV, influenza, and HMPV were responsible for a third of all cases of LRTIs, showing that the burden of these viruses is significant in terms of bed occupancy rates and healthcare costs. Overall, RSV has been described as the main cause of hospital admission and LRTI-related deaths worldwide, followed by influenza viruses, and HMPV, particularly in children aged <1 year.^{1,16–18} RSV and influenza viruses were also the main causes of morbidity and mortality in our study, as both were associated with prolonged LOS. In the case of RSV, this was probably due to the need for respiratory support and PICU admission for bronchiolitis,¹⁹ while in the case of influenza, it was likely due to the use of parenteral antibiotics and respiratory support for secondary bacterial infection in patients with CAP.²⁰ FLUAV and RSV were associated with the four fatalities in our study, all of which occurred in children with a history of comorbidities, as previously reported.^{19,20} Despite the lower number of HMPV cases, the risk of severe infection has been described as similar to that of RSV or influenza viruses, especially in children aged <1 year.^{17,21} However, we observed milder outcomes in HMPV infection, probably due to the lower proportion of children aged <1 year and to differences in HMPV genotypes circulating in each region.⁹ RV, despite being the second most prevalent LRTI-related virus, caused milder disease compared with RSV or influenza viruses, probably due to less respiratory cytokine production leading to a milder proinflammatory response.²² Our data showed that a high proportion of hCoV- and BoV-related LRTIs required PICU admission, and a high number of BoV-related infections required respiratory support, although this occurred mostly in cases of co-infection with more virulent viruses, such as RSV.^{23,24}

Viral LRTIs are generally associated with high bed occupancy rates during surveillance seasons. In our study, the total direct health care cost due to LRTI was €16,603,415, with a per-patient cost of €4,093.54—a considerable economic burden on the health care system, considering that the per capita budget of the Catalan Health Institute is approximately €1,293.1/year, a figure that falls far short of the real cost of these hospitalizations.²⁵ In addition to direct hospital costs, the cost of treating children in primary care and secondary costs arising from parental work absenteeism, together with travel and meal expenses during the child's hospital stay, should be taken into account. This underscores the importance of research and the implementation of preventive measures to reduce morbidity, clinical costs, and bed occupancy rates. Our results suggest that these measures should focus on the prevention of RSV and influenza viruses during epidemics, especially in younger children, and should be offered to the entire paediatric population, regardless of their comorbid status. Preventive measures include influenza vaccination, which can prevent up to 50% of influenza-related hospitalizations in children under eight

years old.²⁶ Other strategies currently under development are anti-viral treatments based on humanized monoclonal antibodies against RSV, which can prevent 77.3% of hospital admissions for RSV-related LRTI in children entering their first RSV season.²⁷

This study has several limitations, apart from its retrospective design. Factors such as viral-bacterial and viral-viral co-detections were not taken into consideration when evaluating clinical evolution, and may modify clinical severity. However, although viral-bacterial co-detections are known to increase disease severity, there is no conclusive evidence that viral-viral co-detections increase the disease burden compared with single infections.^{20,28} From a microbiological point of view, we used various diagnostic techniques with varying sensitivities to detect viral species. This makes it difficult to compare data between seasons, and may have led us to underestimate the true burden of RV, BoV, hCoV, HPIV-4 and EV, especially during the first season studied, when these viruses were not routinely detected. In addition, the use of rapid tests targeting only RSV or influenza viruses during annual epidemics may have led us to underestimate the role of viral co-detection during the winter months. Our use of structured data allowed us to export a considerable volume of information; however, although a group of experts reviewed the disease codes, we cannot rule out the existence of disease and respiratory support coding errors. Nevertheless, large amounts of structured patient data from hospital information system are relatively easy to obtain, and will play a key role in the clinical and virological surveillance of viral LRTIs in children. The total costs may be biased because of COVID-19 pandemic, especially in the 2020–2021 season. Additionally, the calculated cost for this season is underrated as patients were only included until December 2020. Also, costs may have changed along the study period but we were unable to retrieve appropriate yearly data due to changes in the measurement system and economic databases so they were all calculated based on 2021 fares. Finally, despite the relevance of our findings, the single-centre design of our study prevents us from extrapolating our results to other geographical areas. Similar studies in other regions are needed to compare findings on viral LRTIs. Aside from these limitations, our study stands out from previous research conducted in our geographical area, insofar as we describe viral LRTIs from the perspective of microbiological data, clinical outcomes, and consumption of healthcare resources.^{6,9,29} Finally, one of the strengths of our study is the inclusion of a large patient sample, which allowed to study the burden of viral LRTIs in hospitalized children over a long period of time.

In conclusion, viral LRTIs place a heavy burden on hospital resources, and on the healthcare system in general due to their associated morbidity. LRTI-related mortality in our region, however, is scarce, and associated with previous chronic conditions. Continuous surveillance of LRTI will improve healthcare planning, show changes in prevalence and severity trends based on previous seasons, which may indicate the circulation of a new viral variant, and allow hospital authorities to monitor the efficacy of preventive or therapeutic measures in the paediatric population. Our experience of the recent COVID-19 pandemic has shown that active LRTI microbiological and clinical surveillance should be a public health priority. Finally, it is

essential to increase the limited number of antivirals available for influenza and RSV by developing new prophylaxis measures and drugs to treat viral LRTI. This will improve the health of the paediatric population, and reduce the consumption of hospital resources and associated costs.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partially supported by the Spanish National R + D + I Plan 2008–2011 and by the Carlos III Health Institute, the Subdirector-General of Networks and Cooperative Research Centers, the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness, the Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI RD16/0016/0003), and by the Health Research Fund, the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (grants FIS PI14/01838 and FIS PI18/00685), and the European Regional Development Fund (ERDF). Editorial assistance for revision of the English language and edition of the manuscript was provided by Vanessa Marfil, medical writer from MSC (Spain) and funded by Sanofi.

CONFLICT OF INTEREST

All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial interest or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

ETHICS STATEMENT

All procedures were performed in accordance with the ethical standards of the Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus Research Ethics Committee and the 1964 Helsinki Declaration and its subsequent amendments, or comparable ethical standards. The study was approved by the Vall d'Hebron Hospital Clinical Research Ethics Committee (PR[AMI]556/2020).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Jorgina Vila: Conceptualization; data curation; investigation; methodology; project administration; resources; supervision; validation; visualization; writing-original draft; writing-review and editing. **Esther Lera:** Conceptualization; methodology; resources; supervision; validation; writing-original draft; writing-review and editing. **Cristina Andrés:** Data curation; investigation; writing-original draft; writing-review and editing. **María Piñana:** Data curation; investigation; writing-review and editing. **Victoria Rello-Saltor:** Investigation; writing-original draft; writing-review and editing. **Marc Tobeña-Rué:** Investigation; writing-original draft; writing-review and editing. **Joan Balcells:** Investigation; writing-original draft; writing-review and editing. **Zaira Benítez-Díaz:** Data curation; investigation; methodology; resources; software; validation; writing-review and editing. **Marta Beatriz Aller:** Data curation; investigation; methodology; resources; software; supervision; validation; visualization; writing-review and editing. **Rosario Muñoz:** Data curation; resources; writing-review and editing. **Ana Vazquez:** Formal analysis; investigation; methodology; software; supervision; validation; writing-review and editing. **Carlos**

Rodrigo: Conceptualization; investigation; methodology; project administration; resources; visualization; writing-original draft; writing-review and editing. **Pere Soler Palacin:** Conceptualization; funding acquisition; investigation; supervision; writing-original draft; writing-review and editing. **Andrés Anton:** Conceptualization; data curation; funding acquisition; investigation; methodology; project administration; resources; supervision; validation; visualization; writing-original draft; writing-review and editing.

PEER REVIEW

The peer review history for this article is available at <https://publons.com/publon/10.1111/irv.13085>.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Anonymized and de-identified participant data will be available upon request until 2 years after publication. Data will be available for researchers who provide a methodologically sound proposal. Requests may be sent to the corresponding author, and to gain access data requestors will need to sign a data access agreement.

ORCID

Pere Soler-Palacin  <https://orcid.org/0000-0002-0346-5570>

REFERENCES

1. GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(11):1191–1210.
2. Muñoz-Quiles C, López-Lacort M, Úbeda-Sansano I, et al. Population-based analysis of bronchiolitis epidemiology in Valencia. *Spain Pediatr Infect Dis J*. 2016;35(3):275–280. doi:10.1097/INF.0000000000000993
3. Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet*. 2011;377(9773):1264–1275. doi:10.1016/S0140-6736(10)61459-6
4. Jartti T, Gern JE. Role of viral infections in the development and exacerbation of asthma in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(4):895–906. doi:10.1016/j.jaci.2017.08.003
5. Ghazaly M, Nadel S. Characteristics of children admitted to intensive care with acute bronchiolitis. *Eur J Pediatr*. 2018;177(6):913–920. doi:10.1007/s00431-018-3138-6
6. Vila J, Lera E, Peremiquel-Trillas P, et al. Management of hospitalized respiratory syncytial virus bronchiolitis in the pediatric ward in Spain: assessing the impact of a new clinical practice protocol. *Pediatr Drugs*. 2022;24(1):63–71. doi:10.1007/s40272-021-00488-6
7. Heinonen S, Rodríguez-Fernández R, Díaz A, Rodríguez-Pastor SO, Ramilo O, Mejías A. Infant immune response to respiratory viral infections. *Immunity Allergy Clin North Am*. 2019;39(3):361–376. doi:10.1016/j.jiac.2019.03.005
8. European Centre for Disease Prevention and Control. Seasonal influenza—Annual Epidemiological Report for 2020–2021. Available from: ecdc.europa.eu/en/publications-data/seasonal-influenza-annual-epidemiological-report-2020-2021 [Accessed 5 May 2022].
9. Piñana M, Vila J, Maldonado C, et al. Insights into immune evasion of human metapneumovirus: novel 180- and 111-nucleotide duplications within viral G gene throughout 2014–2017 seasons in Barcelona, Spain. *J Clin Virol*. 2020;132:104590. doi:10.1016/j.jcv.2020.104590

10. Coma E, Vila J, Méndez-boo L, Antón A. Respiratory syncytial virus infections in young children presenting to primary care in Catalonia during the COVID-19 pandemic. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2022; 11(2):69-72. doi:10.1093/jpids/piab121
11. Moriyama M, Hugentobler WJ, Iwasaki A. Seasonality of respiratory viral infections. *Annu Rev Virol.* 2020;7(1):83-101. doi:10.1146/annurev-virology-012420-022445
12. Wu A, Mihaylova VT, Landry ML, Foxman EF. Interference between rhinovirus and influenza A virus: a clinical data analysis and experimental infection study. *Lancet Microbe.* 2020;1(6):e254-e262. doi:10.1016/S2666-5247(20)30114-2
13. Tuladhar E, Hazeleger WC, Koopmans M, Zwietering MH, Duizer E, Beumer RR. Reducing viral contamination from finger pads: hand-washing is more effective than alcohol-based hand disinfectants. *J Hosp Infect.* 2015;90(3):226-234. doi:10.1016/j.jhin.2015.02.019
14. Leung NHL, Chu DKW, Shiu EYC, et al. Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. *Nat Med.* 2020;26(5):676-680. doi:10.1038/s41591-020-0843-2
15. Troeger CE, Khalil IA, Blacker BF, et al. Quantifying risks and interventions that have affected the burden of lower respiratory infections among children younger than 5 years: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(1):60-79. doi:10.1016/S1473-3099(19)30410-4
16. Wang X, Li Y, O'Brien KL, et al. Global burden of respiratory infections associated with seasonal influenza in children under 5 years in 2018: a systematic review and modelling study. *Lancet Glob Health.* 2020;8(4):e497-e510. doi:10.1016/S2214-109X(19)30545-5
17. Wang X, Li Y, Deloria-Knoll M, et al. Global burden of acute lower respiratory infection associated with human metapneumovirus in children under 5 years in 2018: a systematic review and modelling study. *Lancet Glob Health.* 2021;9(1):e33-e43. doi:10.1016/S2214-109X(20)30393-4
18. Li Y, Wang X, Blau DM, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: a systematic analysis. *Lancet.* 2022;399(10340):2047-2064. doi:10.1016/S0140-6736(22)00478-0
19. Pham H, Thompson J, Wurzel D, Duke T. Ten years of severe respiratory syncytial virus infections in a tertiary paediatric intensive care unit. *J Paediatr Child Health.* 2020;56(1):61-67. doi:10.1111/jpc.14491
20. Kalil AC, Thomas PG. Influenza virus-related critical illness: pathophysiology and epidemiology. *Crit Care.* 2019;23(1):258. doi:10.1186/s13054-019-2539-x
21. Hani N, Gornick W, Huff B, Atienza J, Singh J. Human metapneumovirus infection in a children's hospital—it should get more attention. *Pediatr Infect Dis J.* 2022;41(4):284-289. doi:10.1097/INF.0000000000003416
22. Adams O, Weis J, Jasinska K, Vogel M, Tenenbaum T. Comparison of human metapneumovirus, respiratory syncytial virus and rhinovirus respiratory tract infections in young children admitted to hospital. *J Med Virol.* 2015;87(2):275-280. doi:10.1002/jmv.24025
23. Heimdal I, Moe N, Krokstad S, et al. Human coronavirus in hospitalized children with respiratory tract infections: a 9-year population-based study from Norway. *J Infect Dis.* 2019;219(8):1198-1206. doi:10.1093/infdis/jiy646
24. Petrarca L, Nenna R, Frassanito A, et al. Human bocavirus in children hospitalized for acute respiratory tract infection in Rome. *World J Pediatr.* 2020;16(3):293-298. doi:10.1007/s12519-019-00324-5
25. Government of Catalonia, Department of Health. La Salut del 2022. Pressupost 2022. Available from: govern.cat/govern/docs/2021/11/12/17/58/bd6c19a3-ca28-41db-910b-baf36a3b4044.pdf [Accessed 11 July 2022].
26. Feldstein LR, Ogokeh C, Rha B, et al. Vaccine effectiveness against influenza hospitalization among children in the United States, 2015-2016. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2021;10(2):75-82. doi:10.1093/jpids/piaa017
27. Hammit LL, Dagan R, Yuan Y, et al. Nirsevimab for prevention of RSV in healthy late-preterm and term infants. *N Engl J Med.* 2022; 386(9):837-846. doi:10.1056/NEJMoa2110275
28. Meskill SD, O'Bryant SC. Respiratory virus co-infection in acute respiratory infections in children. *Curr Infect Dis Rep.* 2020;22(1):3. doi:10.1007/s11908-020-0711-8
29. Gimferrer L, Vila J, Piñana M, et al. Virological surveillance of human respiratory syncytial virus A and B at a tertiary hospital in Catalonia (Spain) during five consecutive seasons (2013-2018). *Future Microbiol.* 2019;14(5):373-381. doi:10.2217/fmb-2018-0261

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Vila J, Lera E, Andrés C, et al. The burden of non-SARS-CoV2 viral lower respiratory tract infections in hospitalized children in Barcelona (Spain): A long-term, clinical, epidemiologic and economic study. *Influenza Other Respi Viruses.* 2022;1-9. doi:10.1111/irv.13085

Supplementary Material

Table of contents

Supplementary Tables

- 2 Supplementary Table 1. Classification of lower respiratory tract infections studied according to ICD-9 and ICD-10 codes.
- 4 Supplementary Table 2. Classification of respiratory support according to ICD-9 and ICD-10 codes.
- 6 Supplementary Table 3. Number of viruses and virus combinations in viral co-detections
- 10 Supplementary Table 4. Number and percentage of monthly viruses comparing rates in the period 2012-2019 versus year 2020
- 13 Supplementary Table 5. Host factors that increased the risk of PICU admission in the univariate and multivariate analysis
- 14 Supplementary Table 6. Cost of the hospitalization per season (PW, PICU and total)

Supplementary Figures

- 15 Supplementary Figure 1. Seasonal number and percentage of positive cases for each virus
- 17 Supplementary Figure 2. Monthly number and percentage of positive cases for each virus

Supplementary Table 1. Classification of lower respiratory tract infections studied according to ICD-9 and ICD-10 codes

Condition	ICD edition	Code	Definition
Bronchiolitis	ICD-9	4661	Acute bronchiolitis
		46611	Acute bronchiolitis due to respiratory syncytial virus (RSV)
		46619	Acute bronchiolitis due to other infectious organisms
	ICD-10	J21.0	Acute bronchiolitis due to respiratory syncytial virus
		J21.1	Acute bronchiolitis due to human metapneumovirus
		J21.8	Acute bronchiolitis due to other specified organisms
J21.9		Acute bronchiolitis, unspecified	
Community acquired pneumonia	ICD-9	480.0	Pneumonia due to adenovirus
		480.1	Pneumonia due to respiratory syncytial virus
		480.2	Pneumonia due to parainfluenza virus
		480.8	Pneumonia due to other virus not elsewhere classified
		480.9	Viral pneumonia, unspecified
		483.8	Pneumonia due to other specified organism
		484	Pneumonia in infectious diseases classified elsewhere
		485	Bronchopneumonia, organism unspecified
		486	Pneumonia, organism unspecified
		487.0	Influenza with pneumonia
		488.01	Influenza due to identified avian influenza virus with pneumonia
		488.11	Influenza due to identified 2009 H1N1 influenza virus with pneumonia
		488.81	Influenza due to identified novel influenza A virus with pneumonia
		ICD-10	J12.0
	J12.1		Respiratory syncytial virus pneumonia
	J12.2		Parainfluenza virus pneumonia
	J12.3		Human metapneumovirus pneumonia
	J12.8		Other viral pneumonia
	J12.9		Viral pneumonia, unspecified
	J16.8		Pneumonia due to other specified infectious organisms
	J17*		Pneumonia in diseases classified elsewhere
	J18.0		Bronchopneumonia, unspecified
	J18.1		Lobar pneumonia, unspecified
	J18.2		Hypostatic pneumonia, unspecified
	J18.8		Other pneumonia, organism unspecified
	J18.9		Pneumonia, unspecified
	J09.X1		Influenza due to identified novel influenza A virus with pneumonia
	J10.00		Influenza due to other identified influenza virus with unspecified type of pneumonia
	J10.01		Influenza due to other identified influenza virus with the same other identified influenza virus pneumonia
	J10.08		Influenza due to other identified influenza virus with other specified pneumonia
	J11.00		Influenza due to unidentified influenza virus with unspecified type of pneumonia
	J11.08		Influenza due to unidentified influenza virus with specified pneumonia
	Wheezing/Asthma	ICD-9	466.0
49301			Extrinsic asthma with status asthmaticus
49302			Extrinsic asthma with (acute) exacerbation
49311			Intrinsic asthma with status asthmaticus
49312			Intrinsic asthma with (acute) exacerbation
49321			Chronic obstructive asthma with status asthmaticus
49322			Chronic obstructive asthma with (acute) exacerbation
49391			Asthma, unspecified type, with status asthmaticus
49392			Asthma, unspecified type, with (acute) exacerbation
ICD-10			J20.3
		J20.4	Acute bronchitis due to parainfluenza virus
		J20.5	Acute bronchitis due to respiratory syncytial virus
		J20.6	Acute bronchitis due to rhinovirus
		J20.7	Acute bronchitis due to echovirus
		J20.8	Acute bronchitis due to other specified organisms
		J20.9	Acute bronchitis, unspecified
		J45.21	Mild intermittent asthma with (acute) exacerbation
		J45.22	Mild intermittent asthma with status asthmaticus
		J45.31	Mild persistent asthma with (acute) exacerbation
J45.32		Mild persistent asthma with status asthmaticus	
J45.41	Moderate persistent asthma with (acute) exacerbation		
J45.42	Moderate persistent asthma with status asthmaticus		
J45.51	Severe persistent asthma with (acute) exacerbation		

		J45.51	Severe persistent asthma with status asthmaticus
		J45.901	Unspecified asthma with (acute) exacerbation
		J45.902	Unspecified asthma with status asthmaticus
Influenza	ICD-9	4871	Influenza with other respiratory manifestations
		4878	Influenza with other manifestations
		48802	Influenza due to identified avian influenza virus with other respiratory manifestations
		48809	Influenza due to identified avian influenza virus with other manifestations
		48812	Influenza due to identified 2009 H1N1 influenza virus with other respiratory manifestations
		48819	Influenza due to identified 2009 H1N1 influenza virus with other manifestations
		48882	Influenza due to identified novel influenza A virus with other respiratory manifestations
	ICD-10	J09.X2	Influenza due to identified novel influenza A virus with other respiratory manifestations
		J09.X9	Influenza due to identified novel influenza A virus with other manifestations
		J10.1	Influenza due to other identified influenza virus with other respiratory manifestations
		J10.89	Influenza due to other identified influenza virus with other manifestations
J11.1		Influenza due to unidentified influenza virus with other respiratory manifestations	
	J11.89	Influenza due to unidentified influenza virus with other manifestations	
Respiratory failure	ICD-9	51881	Acute respiratory failure
		51882	Other pulmonary insufficiency, not elsewhere classified
		51884	Acute and chronic respiratory failure
	ICD-10	J96.00	Acute respiratory failure
		J96.01	Acute respiratory failure with hypoxia
		J96.02	Acute respiratory failure with hypercapnia
		J96.20	Acute and chronic respiratory failure
		J96.21	Acute and chronic respiratory failure with hypoxia
		J96.22	Acute and chronic respiratory failure with hypercapnia
		J96.90	Respiratory failure, unspecified, unspecified whether with hypoxia or hypercapnia
		J96.91	Respiratory failure, unspecified with hypoxia
		J96.92	Respiratory failure, unspecified with hypercapnia
		Infection in the newborn	ICD-9
ICD-10	P28.89		Other specified respiratory conditions of newborn
	P39.9		Infection specific to the perinatal period, unspecified
	P39.8		Other specified infections specific to the perinatal period
	P96.89	Other specified conditions originating in the perinatal period	
ICD: International classification of diseases			

Supplementary Table 2. Classification of respiratory support according to ICD-9 and ICD-10 codes

Respiratory support	ICD edition	Code	Definition	
Conventional oxygen	ICD-9	93.96	Other oxygen enrichment	
	ICD-10	3E0F7SF	Introduction of Other Gas into Respiratory Tract, Via Natural or Artificial Opening	
		5A0522C	Extracorporeal Supersaturated Oxygenation, Continuous	
High flow nasal oxygen or non-invasive mechanical ventilation	ICD-9	93.99	Other respiratory procedures Continuous negative pressure ventilation [CNP] Postural drainage	
		93.90	Non-invasive mechanical ventilation Bi-level airway pressure BiPAP without (delivery through) endotracheal tube or tracheostomy CPAP without (delivery through) endotracheal tube or tracheostomy Mechanical ventilation NOS Non-invasive positive pressure (NIPPV) Non-invasive PPV NPPV That delivered by non-invasive interface: face mask nasal mask nasal pillow oral mouthpiece oronasal mask	
		93.91	Intermittent positive pressure breathing [IPPB]	
	ICD-10	5A09357	Assistance with Respiratory Ventilation, Less than 24 Consecutive Hours, Continuous Positive Airway Pressure	
		5A09358	Assistance with Respiratory Ventilation, Less than 24 Consecutive Hours, Intermittent Positive Airway Pressure	
		5A09359	Assistance with Respiratory Ventilation, Less than 24 Consecutive Hours, Continuous Negative Airway Pressure	
		5A0935A	Assistance with Respiratory Ventilation, Less than 24 Consecutive Hours, High Nasal Flow/Velocity	
		5A0935B	Assistance with Respiratory Ventilation, Less than 24 Consecutive Hours, Intermittent Negative Airway Pressure	
		5A0935Z	Assistance with Respiratory Ventilation, Less than 24 Consecutive Hours	
		5A09457	Assistance with Respiratory Ventilation, 24-96 Consecutive Hours, Continuous Positive Airway Pressure	
		5A09458	Assistance with Respiratory Ventilation, 24-96 Consecutive Hours, Intermittent Positive Airway Pressure	
		5A09459	Assistance with Respiratory Ventilation, 24-96 Consecutive Hours, Continuous Negative Airway Pressure	
		5A0945A	Assistance with Respiratory Ventilation, 24-96 Consecutive Hours, High Nasal Flow/Velocity	
		ICD-9	96.70	Other continuous invasive mechanical ventilation
			96.71	Continuous invasive mechanical ventilation for less than 96 consecutive hours
			96.72	Continuous invasive mechanical ventilation for 96 consecutive hours or more
			5A19054	Respiratory Ventilation, Single, Nonmechanical
5A1935Z	Respiratory Ventilation, Less than 24 Consecutive Hours			
ICD-10	5A1945Z	Respiratory Ventilation, 24-96 Consecutive Hours		
	5A1955Z	Respiratory Ventilation, Greater than 96 Consecutive Hours		
ECMO	ICD-9	39.65	Extracorporeal membrane oxygenation [ECMO]	
	ICD-10	5A1522F	Extracorporeal Oxygenation, Membrane, Central	
		5A1522G	Extracorporeal Oxygenation, Membrane, Peripheral Venous-arterial	

		5A1522H	Extracorporeal Oxygenation, Membrane, Peripheral Venovenous
ECMO: Extracorporeal membrane oxygenation; ICD: International classification of diseases			

Supplementary Table 3. Number of viruses and virus combinations in viral co-detections

Co-detections		N	%
Two viruses (N 445)	AdV + BoV	8	1.80
	AdV + hCoV-OC43	1	0.22
	AdV + EV	4	0.90
	AdV + HPIV-1	1	0.22
	AdV + HPIV-3	4	0.90
	AdV + RV	64	14.38
	BoV + EV	2	0.45
	BoV + HPIV-1	2	0.45
	BoV + HPIV-3	1	0.22
	BoV + HPIV-4	4	0.90
	hCoV-229E + hCoV-NL63	1	0.22
	hCoV-229E + RV	5	1.12
	hCoV-NL63 + BoV	2	0.45
	hCoV-NL63 + EV	1	0.22
	hCoV-NL63 + HPIV-3	1	0.22
	hCoV-NL63 + RV	7	1.57
	hCoV-OC43 + BoV	2	0.45
	hCoV-OC43 + EV	1	0.22
	hCoV-OC43 + RV	10	2.25
	FLUAV + AdV	1	0.22
	FLUAV + EV	1	0.22
	FLUAV + HMPV	1	0.22
	FLUAV + RV	2	0.45
	FLUAV + RSV	6	1.35
	FLUBV + RV	1	0.22
	FLUBV + RSV	1	0.22
	HMPV + AdV	6	1.35
	HMPV + BoV	8	1.80
	HMPV + hCoV-229E	1	0.22
	HMPV + hCoV-NL63	2	0.45
	HMPV + hCoV-OC43	3	0.67

	HMPV + EV	6	1-35
	HMPV + HPIV-3	1	0-22
	HMPV + HPIV-4	1	0-22
	HMPV + RV	37	8-31
	HPIV-1 + EV	1	0-22
	HPIV-2 + EV	1	0-22
	HPIV-3 + EV	2	0-45
	HPIV-3 + HPIV-4	2	0-45
	HPIV-4 + EV	4	0-90
	RV + BoV	40	8-99
	RV + EV	25	5-62
	RV + HPIV-1	6	1-35
	RV + HPIV-2	2	0-45
	RV + HPIV-3	19	4-27
	RV + HPIV-4	6	1-35
	RSV + AdV	11	2-47
	RSV + BoV	13	2-92
	RSV + hCoV-229E	1	0-22
	RSV + hCoV-NL63	4	0-90
	RSV + hCoV-OC43	7	1-57
	RSV + EV	8	1-80
	RSV + MPNV	6	1-35
	RSV + HPIV-2	1	0-22
	RSV + HPIV-3	3	0-67
	RSV + HPIV-4	1	0-22
	RSV + RV	83	18-65
Three viruses (N 108)	AdV + BoV + EV	1	0-93
	AdV + hCoV-229E + RV	1	0-93
	AdV + hCoV-OC43 + RV	3	2-78
	AdV + HPIV-3 + EV	1	0-93
	AdV + RV + BoV	7	6-48

	AdV + RV + EV	9	8-33
	AdV + RV + HPIV-1	1	0-93
	AdV + RV + HPIV-3	3	2-78
	AdV + RV + HPIV-4	1	0-93
	BoV + HPIV-3 + EV	1	0-93
	hCoV-NL63 + RV + BoV	1	0-93
	hCoV-NL63 + RV + HPIV-4	1	0-93
	hCoV-OC43 + BoV + EV	1	0-93
	hCoV-OC43 + RV + HPIV-1	1	0-93
	FLUAV + AdV + RV	1	0-93
	FLUAV + BoV + RV	1	0-93
	FLUAV + hCoV-229E + RV	1	0-93
	FLUAV + HMPV + EV	1	0-93
	FLUAV + RSV + RV	1	0-93
	FLUBV + RSV + RV	2	1-85
	HMPV + BoV + EV	2	1-85
	HMPV + hCoV-NL63+ RV	1	0-93
	HMPV + RV + BoV	2	1-85
	HMPV + RV + EV	2	1-85
	HMPV + RV + HPIV-2	1	0-93
	HMPV + RV + HPIV-3	2	1-85
	RV + BoV + EV	7	6-48
	RV + BoV + HPIV-3	3	2-78
	RV + HPIV-1+ EV	1	0-93
	RV + HPIV-2+ EV	1	0-93
	RV + HPIV-3+ EV	5	4-63
	RV + HPIV-4+ EV	1	0-93
	RSV + AdV + BoV	5	4-63
	RSV + AdV + hCoV-OC43	2	1-85
	RSV + AdV + EV	1	0-93
	RSV + AdV + RV	4	3-70

	RSV + BoV + EV	3	2-78
	RSV + BoV + HPIV-3	1	0-93
	RSV + hCoV-229E + BoV	1	0-93
	RSV + hCoV-NL63+ HPIV-1	1	0-93
	RSV + hCoV-NL63+ RV	1	0-93
	RSV + hCoV-OC43+ RV	1	0-93
	RSV + HMPV + BoV	1	0-93
	RSV + HMPV + EV	1	0-93
	RSV + MPNV + RV	1	0-93
	RSV + HPIV-4+ EV	1	0-93
	RSV + RV + BoV	3	2-78
	RSV + RV + EV	7	6-48
	RSV + RV + HPIV-1	1	0-93
	RSV + RV + HPIV-3	1	0-93
	RSV + RV + HPIV-4	5	4-63
Four viruses (N 12)	AdV + RV + BoV + EV	3	25-00
	AdV + RV + BoV + HPIV-3	1	8-33
	HMPV + AdV + hCoV-NL63 + BoV	1	8-33
	HMPV + AdV + RV + BoV	1	8-33
	RSV + AdV + BoV + EV	1	8-33
	RSV + AdV + RV + BoV	2	16-67
	RSV + AdV + RV + EV	1	8-33
	RSV + AdV + RV + HPIV-1	1	8-33
	RSV + hCoV-OC43 + BoV + EV	1	8-33

AdV: adenovirus; BoV: bocavirus; EV: enterovirus; FLUAV: influenza A virus; FLUBV: influenza B virus; hCoV: human coronaviruses; HMPV: human metapneumovirus; HPIV: human parainfluenza viruses; RSV: respiratory syncytial virus; RV: rhinovirus.

Supplementary Table 4. Number and percentage of monthly viruses comparing rates in the period 2012-2019 versus year 2020

Virus	Year	Jan	Feb	Mar	Apr	May	June	July	Aug	Sept	Oct	Nov	Dec	<i>p value</i> ^f
TOTAL	2012 - 2019	510	287	298	191	140	114	32	21	141	208	638	1,265	
	2020	68	45	26	1	0	0	0	4	14	31	17	5	
FLUAV N (%)	2012 - 2019	33 (6.47)	47 (16.38)	24 (8.05)	2 (1.05)	0	1 (0.88)	0	0	0	0	0	15 (1.19)	0.0156
	2020	15 (1.19)	8 (17.78)	3 (11.54)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
FLUBV N (%)	2012 - 2019	8 (1.57)	9 (3.14)	19 (6.38)	0	0	0	0	0	0	0	0	7 (0.55)	0.0006
	2020	2 (2.94)	5 (11.11)	3 (11.54)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RSV N (%)	2012 - 2019	359 (70.39)	91 (31.71)	39 (13.09)	11 (5.76)	5 (3.57)	6 (5.26)	3 (9.38)	2 (9.52)	1 (0.71)	30 (14.42)	420 (65.83)	1,107 (87.51)	<0.0001
	2020	48 (70.59)	9 (20)	2 (7.69)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
HMPV	2012 - 2019	15 (2.94)	44 (15.33)	117 (39.26)	72 (37.70)	24 (17.14)	12 (10.53)	2 (6.25)	1 (4.76)	5 (3.55)	1 (0.48)	10 (1.57)	20 (1.58)	0.9478
	2020	3 (4.41)	4 (8.89)	10 (38.46)	0	1 (25)	0	0	0	0	0	0	0	
AdV	2012 - 2019	15 (2.94)	21 (7.32)	29 (9.73)	15 (7.85)	16 (11.43)	16 (14.04)	3 (9.38)	1 (4.76)	10 (7.09)	15 (7.21)	36 (5.64)	40 (3.16)	0.9790

	2020	5 (7.35)	0	0	0	0	0	0	0	0	4 (12.90)	3 (17.65)	0	
hCoV-229E	2012 - 2019	4 (0.78)	2 (0.70)	3 (1.01)	0	0	0	0	0	0	0	0	3 (0.24)	≠
	2020	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
hCoV-NL63	2012 - 2019	6 (1.18)	4 (1.39)	6 (2.01)	0	0	1 (0.88)	0	0	0	1 (0.48)	3 (0.47)	5 (0.40)	≠
	2020	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
hCoV-OC43	2012 - 2019	3 (0.59)	3 (1.05)	1 (0.34)	5 (2.62)	1 (0.71)	1 (0.88)	0	0	3 (2.13)	1 (0.48)	7 (1.10)	10 (0.79)	0.0005
	2020	5 (7.35)	4 (8.89)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RV	2012 - 2019	79 (15.49)	85 (29.62)	90 (30.20)	96 (50.26)	81 (57.86)	48 (42.11)	12 (37.50)	12 (57.14)	113 (80.14)	146 (70.19)	201 (31.50)	136 (10.75)	<0.0001
	2020	15 (22.06)	17 (37.78)	8 (30.77)	0	0	0	0	4 (100)	14 (100)	31 (100)	17 (100)	5 (100)	
BoV	2012 - 2019	19 (3.73)	13 (4.53)	12 (4.03)	7 (3.66)	5 (3.57)	4 (3.51)	0	3 (14.29)	3 (2.13)	12 (5.77)	35 (5.49)	48 (3.79)	0.7825
	2020	1 (1.47)	3 (6.67)	2 (7.69)	1 (100)	0	0	0	0	0	0	0	1 (20)	
HPIV-1	2012 - 2019	1 (0.20)	0	0	0	0	1 (0.88)	2 (6.25)	1 (4.76)	6 (4.26)	14 (6.73)	14 (2.19)	0	≠
	2020	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
HPIV-2	2012 - 2019	0	0	1 (0.34)	0	0	0	0	0	0	1 (0.48)	5 (0.78)	1 (0.08)	≠

	2020	0	1 (2.22)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
HPIV-3	2012 - 2019	6 (1.18)	6 (2.09)	15 (5.03)	26 (13.61)	24 (17.14)	33 (28.95)	7 (21.88)	2 (9.52)	6 (4.26)	5 (2.40)	10 (1.57)	9 (0.71)	‡
	2020	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
HPIV-4	2012 - 2019	1 (0.20)	1 (0.35)	0	2 (1.05)	0	2 (1.75)	0	4 (19.05)	1 (0.71)	12 (5.77)	22 (3.45)	8 (0.63)	‡
	2020	3 (4.41)	1 (2.22)	1 (3.85)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
EV	2012 - 2019	1 (0.20)	1 (0.35)	11 (3.69)	8 (4.19)	17 (12.14)	15 (13.16)	5 (15.63)	2 (9.52)	19 (13.48)	9 (4.33)	28 (4.39)	21 (1.66)	‡
	2020	0	3 (6.67)	3 (11.54)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

AdV: adenovirus; Apr: April; Aug: August; BoV: bocavirus; Dec: December; EV: enterovirus; Feb: February; FLUAV: influenza A virus; FLUBV: influenza B virus; hCoV: human coronavirus; HMPV: human metapneumovirus; HPIV 1-4: human parainfluenza viruses 1-4; Jan: January; Mar: March; Nov: November; Oct: October; RSV: respiratory syncytial virus; RV: rhinovirus; Sept: September

†p values were calculated by comparing the average monthly cases in the period 2012-2019 versus 2020

‡p values were not calculated due to the small sample size

Supplementary Table 5. Host factors that increased the risk of PICU admission in the univariate and multivariate analysis

	N (%)	OR (95CI)	<i>p</i> -value	aOR (95CI)	<i>ap</i> -value
Male sex	233 (64.72)	1.42 (1.13-1.79)	0.0027	1.40 (1.11-1.78)	0.0048
Age					
- ≤12 months	227 (63.06)	REF [†]		REF [†]	
- 12-24 months	79 (21.94)	2.74 (1.91-3.93)	<0.0001	1.93 (1.37-2.71)	0.0002
- 2-4 years	35 (9.72)	6.46 (3.98-10.49)	<0.0001	4.14 (2.50-6.85)	<0.0001
- 5-15 years	19 (5.28)	5.28 (2.79-9.98)	<0.0001	3.84 (2.08-7.11)	<0.0001
Comorbidities	70 (19.44)	2.22 (1.65-2.97)	<0.0001	3.28 (2.39-4.50)	<0.0001
Disease					
- Bronchiolitis	251 (69.72)	4.31 (3.40-5.46) [‡]	<0.0001	REF [†]	
- Wheezing/Asthma	89 (24.72)	0.25 (0.19-0.32) [‡]	<0.0001	2.12 (1.34-3.37)	0.0004
- CAP	20 (5.56)	0.62 (0.39-1.00) [‡]	0.0538	1.28 (0.63-2.61)	0.68

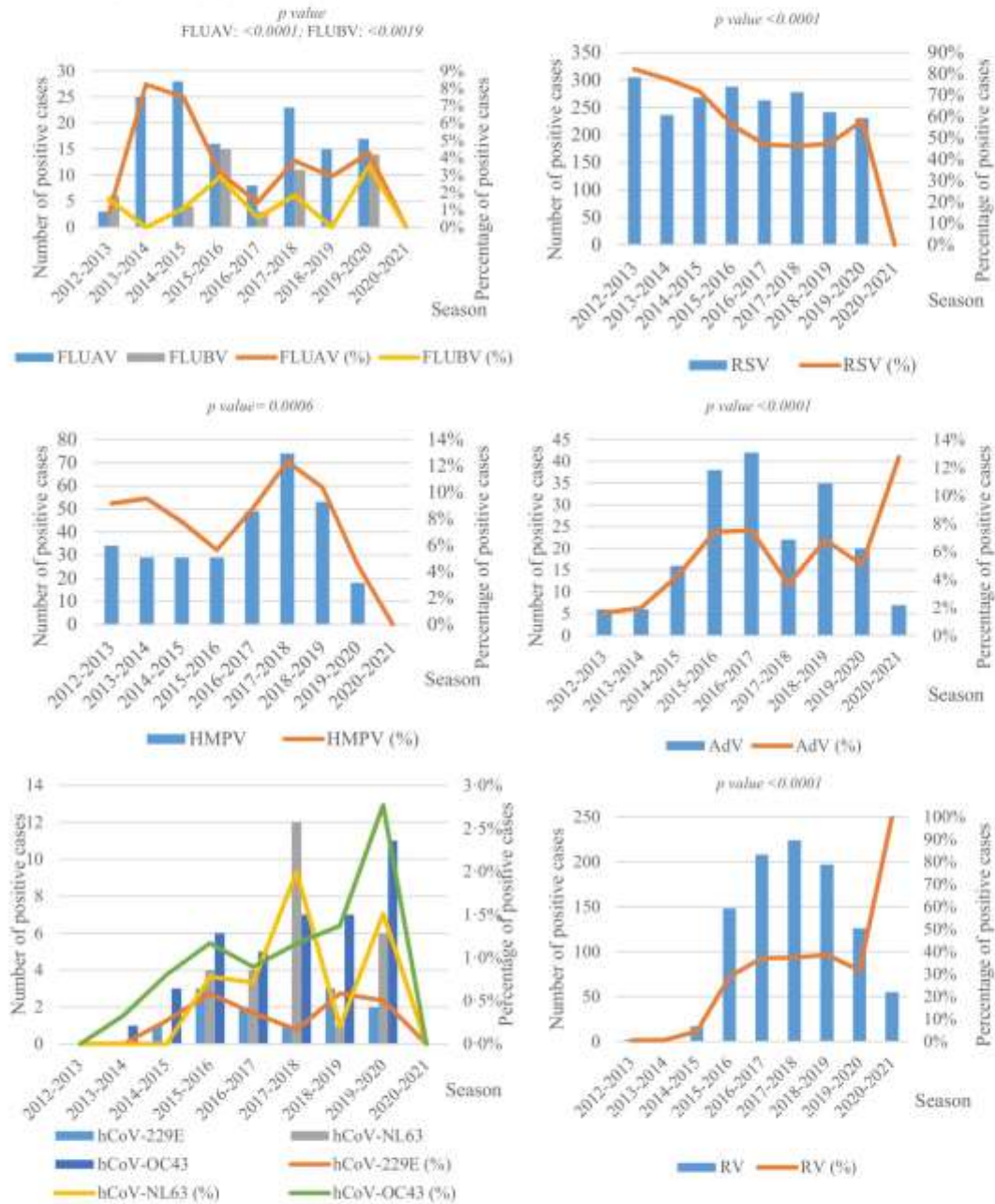
aOR: adjusted odds ratio; *ap*-value: *p*-value of multivariate logistic regression, CAP: community acquired pneumonia; 95CI: 95% confidence interval; OR: odds ratio; PICU: paediatric intensive care unit; REF: reference. [†]The OR and aOR are calculated by comparing ≤ 12 months with each age range or bronchiolitis with each disease. [‡]The OR is calculated by comparing the number of cases with the disease with those without the disease.

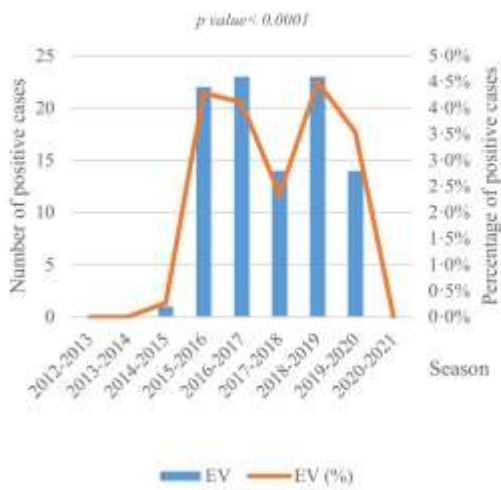
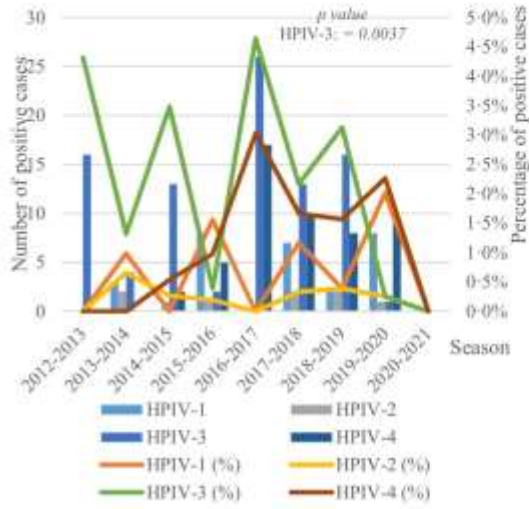
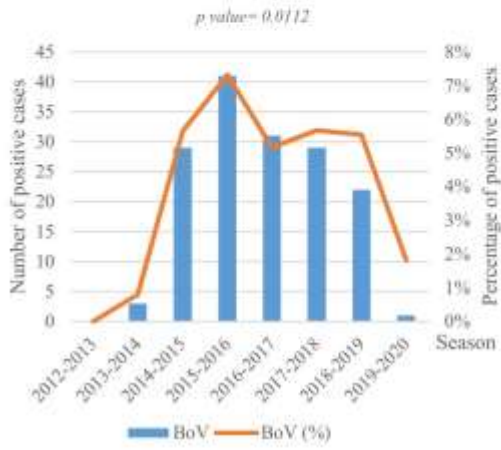
Supplementary Table 6. Cost of the hospitalization per season (PW, PICU and total)

Season	Total PW cost (€)	Total PICU cost (€)	Total (€)
2012-2013	1,025,820	312,550	1,338,370
2013-2014	851,160	279,650	1,130,810
2014-2015	1,215,855	904,750	2,120,605
2015-2016	1,110,690	1,440,550	2,551,240
2016-2017	1,495,680	881,250	2,376,930
2017-2018	1,586,700	1,257,250	2,843,950
2018-2019	1,172,805	575,750	1,748,555
2019-2020	865,920	509,950	1,375,870
2020-2021	81,180	11,750	92,930

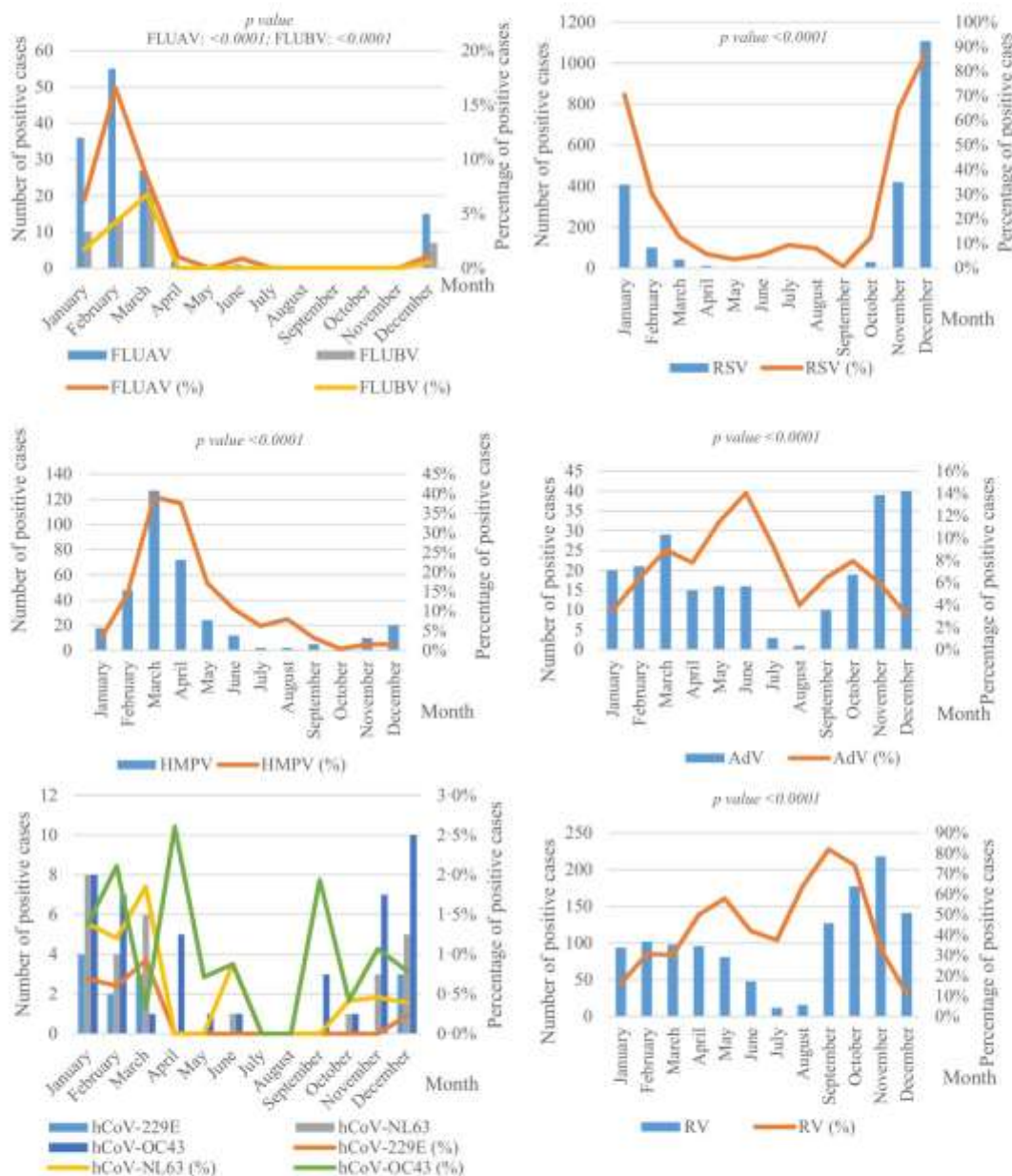
PICU: Paediatric intensive care unit; PW: Paediatric ward

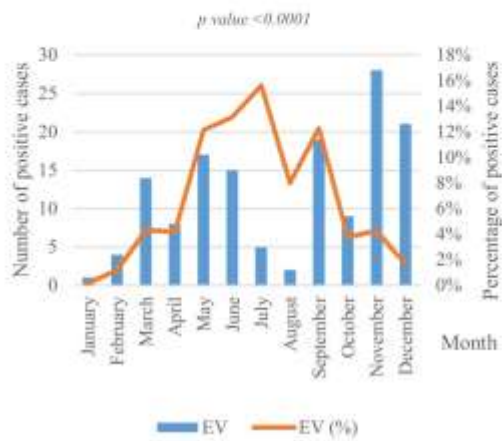
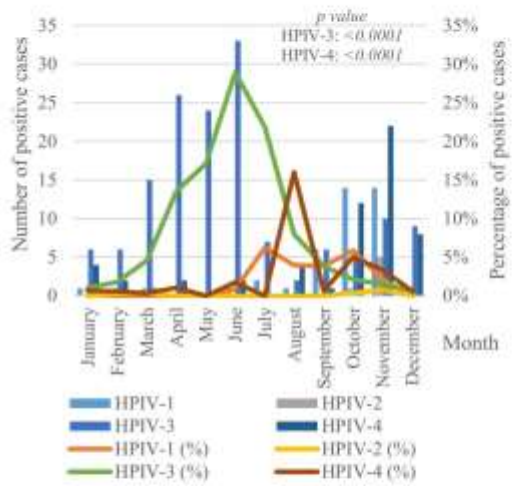
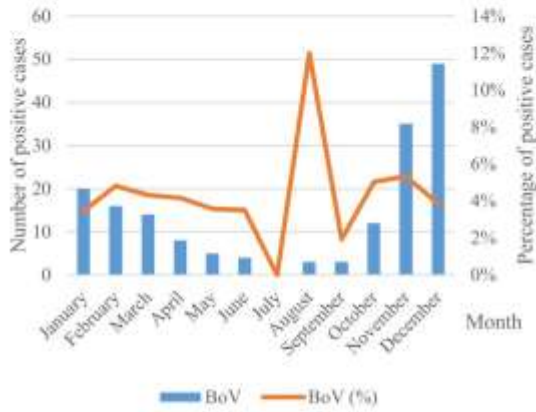
Supplementary Figure 1. Seasonal number and percentage of positive cases for each virus. The percentage of positive cases is calculated by dividing the number of patients positive for each virus per season by the total of positive patients per season. *p values* are specified in statistically significant cases. AdV: adenovirus; BoV: bocavirus; EV: enterovirus; FLUAV: influenza A virus; FLUBV: influenza B virus; hCoV: human coronavirus; HMPV: human metapneumovirus; HPIV 1-4: human parainfluenza viruses 1-4; RSV: respiratory syncytial virus; RV: rhinovirus.





Supplementary figure 2. Monthly number and percentage of positive cases for each virus. The percentage of positive cases is calculated by dividing the number of patients positive for each virus per month by the total of positive patients per month. *p* values are specified in statistically significant cases. AdV: adenovirus; BoV: bocavirus; EV: enterovirus; FLUAV: influenza A virus; FLUBV: influenza B virus; hCoV: human coronavirus; HMPV: human metapneumovirus; HPIV 1-4: human parainfluenza viruses 1-4; RSV: respiratory syncytial virus; RV: rhinovirus





2. ESTUDIO 2

Título: Increased RSV-A bronchiolitis severity in RSV infected children admitted to a reference center in Catalonia (Spain) between 2014 and 2018

Año de publicación: 2023

Revista: Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society

Factor de impacto (2022): 5,235

Cuartil (2022): Q1

Posición en la bibliografía de esta tesis: (140)

Referencia: Vila J, Lera E, Peremiquel-Trillas P, Andrés C, Martínez L, Barceló I, et al.

Increased Rsv-A Bronchiolitis Severity In Rsv Infected Children Admitted To A Reference Center In Catalonia (Spain) Between 2014 And 2018. J Pediatric Infect Dis Soc. 2023;piad009.

INCREASED RSV-A BRONCHIOLITIS SEVERITY IN RSV INFECTED CHILDREN ADMITTED TO A REFERENCE CENTER IN CATALONIA (SPAIN) BETWEEN 2014 AND 2018

Jorgina Vila^{1,2,3}, Esther Lera^{2,4}, Paula Peremiquel-Trillas^{5,6}, Cristina Andrés⁷, Laia Martínez⁸, Irene Barceló⁸, Ariadna Carsí¹, Joan Balcells^{2,9}, José Ángel Rodrigo-Pendás⁵, Pere Soler-Palacín^{2, 3,10}, Carlos Rodrigo^{2,11,12}, Andrés Antón⁶

¹Pediatric Hospital Medicine. Department of Pediatrics. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

²Department of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, Preventive Medicine and Public Health. Faculty of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Barcelona, Spain.

³Infection in immunocompromised pediatric patients, Vall d'Hebron Research Institute, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

⁴Pediatric Emergency Unit. Department of Pediatrics. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

⁵Preventive Medicine and Epidemiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

⁶Research Unit Infections and Cancer. Institut Català d'Oncologia. Avinguda de la Gran Via de l'Hospitalet, 199-203, 08908 L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona.

⁷Respiratory Viruses Unit. Virology Section, Microbiology Department. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Research Institute, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

⁸Department of Pediatrics. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

⁹Pediatric Critical Care Unit. Department of Pediatrics. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

¹⁰Pediatric Infectious Diseases and Immunodeficiencies Unit. Department of Pediatrics. Hospital Infantil Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

¹¹Department of Pediatrics. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Carretera de Canyet, s/n, 08916 Badalona, Barcelona, Spain.

¹²Germans Trias i Pujol Research Institute. Carretera de Can Ruti, Camí de les Escoles, s/n. 08916 Badalona, Barcelona, Spain.

Corresponding author: Carlos Rodrigo, Department of Pediatrics. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Carretera de Canyet, s/n, 08916 Badalona, Barcelona, Spain. E-mail: crodrigo.germanstrias@gencat.cat. Telephone: 00344978357

40-word summary: RSV-A bronchiolitis, compared with RSV-B, had greater severity at hospital admission, lengthier hospital and PICU LOS, more proportion of PICU admissions, and higher respiratory support requirements. Both groups had similar demographic characteristics and similar rates of prematurity and comorbidities.

Accepted Manuscript

ABSTRACT

Between 2014-2018, we evaluated the severity of 687 cases of bronchiolitis caused by Respiratory Syncytial Virus (RSV) in Catalonia, Spain. Compared to RSV-B, RSV-A cases required intensive care (aRR=1.44, $P<0.01$) and respiratory support (aRR=1.07, $P<0.01$) more often; hospital stay was one day longer ($P<0.01$). Subgroup identification may aid clinical evaluation and seasonal healthcare planning.

Keywords: Respiratory syncytial virus; bronchiolitis; bronchiolitis severity; respiratory infections; RSV-A

Accepted Manuscript

INTRODUCTION

Acute bronchiolitis due to the respiratory syncytial virus (RSV) is the leading cause of hospital admissions in children under two years of age [1].

RSV is divided into the subgroups RSV-A and RSV-B based on antigenic and genetic characteristics [2] and further classified into 34 different genotypes. RSV subgroups can coexist during the respiratory virus season. In Spain, ON1 (RSV-A) and BA9 (RSV-B) genotypes have been predominant between 2014 and 2018 [2].

RSV bronchiolitis severity depends on environmental, host, and viral factors. There is evidence of an association between RSV subgroups with bronchiolitis prognosis and immunological profiles, and there is inconclusive data suggesting that RSV-A might cause more severe bronchiolitis [3-5]. For example, Laham et al. conducted a 3-year prospective multicentric study by including <2 years-old hospitalized bronchiolitis in the United States and reported no differences in hospital LOS, PICU admission, and NIMV or IMV use when considering all laboratory-confirmed cases for RSV, although when only single RSV infections were analyzed, RSV-A infected patients were more prone to require PICU admission [3].

To further clarify the association between RSV subgroups and their influence on disease severity, we retrospectively investigated the differences between the severity of bronchiolitis caused by RSV-A and RSV-B in a cohort of children in Catalonia, Spain.

PATIENTS AND METHODS

Study design, setting and patients

We conducted a retrospective cohort study over four consecutive seasons (2014-2018) in a reference children's hospital in Catalonia (Spain). Each surveillance season lasted from October (epidemiological week 40) to May (epidemiological week 20). All paediatric patients aged ≤ 24 months with laboratory-confirmed RSV bronchiolitis as per our internal protocol that required hospitalization were included in the study [6].

To determine differences in the severity of bronchiolitis caused by RSV-A and RSV-B, we collected data on hospital length of stay (LOS), paediatric intensive care unit (PICU) admission and LOS, and need of respiratory support as primary outcomes. Given that all patients survived, mortality was not included as an outcome.

Demographic, clinical, and viral data were retrospectively gathered from electronic clinical records. Demographic data included: season, sex, age, prematurity until moderate preterm (< 34 weeks of gestation) and comorbidities (congenital heart disease, bronchopulmonary dysplasia and other chronic respiratory diseases, immunodeficiency or immunosuppression, and chronic neurological disease). Clinical data included the Sant Joan de Déu bronchiolitis Score at admission (BROSJOD) [7], hospital LOS, need for respiratory support, PICU admission, performance of chest X-ray, and administration of antibiotics. All the information was collected in an anonymized database.

Laboratory diagnosis

Routine RSV laboratory confirmation was performed on respiratory samples by immunofluorescent antigen detection (D3 Ultra 8™ DFA Respiratory Virus Screening & Identification Kit, Diagnostic HYBRIDS, USA) or by real-time multiplex RT-PCR (Anyplex™ II RV16 Detection kit, Seegene, South Korea during the 2014-2015 season, and Allplex™ Respiratory Panel, Seegene, South Korea thereafter). Rapid detection of RSV during epidemics was performed using an immunofluorescent assay (Sofia RSV FIA, Quidel, CA, USA) or a rapid molecular test (GeneXpert Flu or Flu/RSV XC, Cepheid, CA, USA). RSV subgroups (A or B) were identified using the confirmatory real-time multiplex PCR assay described above (Anyplex™ and Allplex™) or an alternative PCR assay, as described by Gimferrer et al [2].

Statistical analysis

Patient characteristics were described using a univariate analysis. Frequencies and percentages were used to describe categorical variables, while continuous variables were described using the median and the interquartile range (IQR) as they were not normally distributed. Some numerical variables were transformed to categorical for the analysis. The effect of RSV subtype on the categorical

variables of severity (moderate-to-severe score at admission, PICU admission, need for respiratory support, >7 days of hospital and PICU LOS, use of respiratory support) and use of healthcare resources (x-ray performance and antibiotic prescription) was calculated using a Chi-squared test to assess the relative risk (RR). For continuous variables, the median difference with a 95% confidence interval (95% CI) was calculated [8].

We performed a multivariate analysis to assess the effect of RSV type on the categorical variables of severity and use of healthcare resources. The adjusted RR (aRR) was calculated using Poisson regression models, considering season, age, sex, comorbidities, and prematurity as potential confounders (Supplementary Table 1). Statistical analysis was performed on Stata v16 software (StataCorp. 2019. Stata Statistical Software: Release 16. College Station, TX: StataCorp LP).

All study procedures followed the ethical standards of the institutional research committee and the Helsinki Declaration and its subsequent amendments. The study was approved by the Vall d'Hebron Hospital Clinical Research Ethics Committee (PR(AG)78/2014).

RESULTS

During 2014-2018, 687 children were admitted to the hospital due to bronchiolitis caused by RSV; 322 (46.9%) cases were identified as RSV-A and 365 (53.1%) as RSV-B. Mean age, sex, preterm status, and presence of chronic conditions were similar in both groups (RSV-A and RSV-B infection) (Table 1).

Overall, bronchiolitis was more severe in patients infected by RSV-A compared with RSV-B in all outcomes measured and in the use of antibiotics (Table 1). Likewise, after adjusting for confounding factors, moderate/severe score at hospital admission (aRR = 1.15), LOS >7 days (aRR = 1.44), PICU admission (aRR = 1.44) and PICU LOS >7 days (aRR = 2.06), the need for respiratory support (aRR = 1.07), and antibiotic use (aRR = 1.40) were more frequent in RSV-A-infected patients (Figure 1) and (Supplementary Table 1).

DISCUSSION

In this study, we show that among patients hospitalized due to RSV bronchiolitis with similar characteristics (demographics, prematurity, and previous comorbidities), those infected with RSV-A presented greater bronchiolitis severity at admission, required longer hospital and PICU LOS, and were more likely to require PICU admissions and respiratory support.

Our results are in line with previous reports suggesting that RSV-A bronchiolitis is associated with worse severity and evolution compared with RSV-B [3,4], possibly because RSV-A replicates and disseminates more effectively in airway cells than RSV-B, thereby triggering a more virulent immune reaction in the host, and suggesting that RSV-A may be more pathogenic [9,10]. However, other studies have reported no differences between subgroups and bronchiolitis severity [10]. On one hand, the lack of standardized severity scores prevents any meaningful comparison between studies, and on the other, factors such as prematurity, coinfection, or viral load [3-5,11] may affect the severity of the disease and prevent an accurate assessment of any association between subtype and severity.

The disparity between the number of X-rays requested, which was similar in patients with RSV-A and RSV-B infection, and the higher proportion of antibiotics prescribed in patients with RSV-A infection may be explained by the higher proportion of RSV-A-infected patients requiring PICU admission and invasive mechanical ventilation, as these patients were more likely to receive antibiotic treatment for suspected respiratory bacterial coinfections or confirmed nosocomial infections related to the procedures they were subjected.

One of the strengths of our study is that it includes a large number of hospitalized patients over several consecutive seasons, with a similar proportion of RSV-A and RSV-B infections, and with exclusive co-circulation of ON1 and BA9 (according to previous surveillance studies, 99% RSV-A positive samples were ON1 and 91% of RSV-B positive samples were BA9), allowing us to perform an unbiased study of the circulation and severity of RSV over a long period of time [2]. Another strength is that both groups had similar demographic characteristics. The major limitation of the study is that viral or bacterial coinfections were not assessed. Viral interference can regulate the burden of

respiratory viruses, although clinical studies comparing disease evolution in single and co-infected RSV patients have reported conflicting results [3,5,12]. Among viral-bacterial coinfections, although the difficulties in obtaining samples for culture to confirm respiratory bacterial infections, it is described in the 1-3% of bronchiolitis. In most of the cases described, bacterial coinfections are related to *Streptococcus pneumoniae* causing more severe disease [13,14]. Another limitation is that viral loads were not estimated in our study samples. Although viral load might have an effect on disease severity [11], other studies have shown no association between viral load, subtype, and severity [10].

Our results provide useful information for both healthcare providers and researchers. The availability of rapid diagnostic tests that can discriminate between subgroups may improve the initial evaluation and predict worse clinical outcomes in certain patients, while identifying the predominant subtype at the start of the season could facilitate public health planning. Further studies are required to determine the contribution of RSV subtypes and genotypes to bronchiolitis severity.

Accepted Manuscript

Acknowledgments

Editorial assistance for revision of the English language and edition of the manuscript was provided by Ignacio Postigo-Hidalgo, medical writer from MSC (Spain), and funded by Sanofi.

Funding

This study was partially funded by the national R + D + I Plan 2008–2011 and by the Carlos III Health Institute, the Subdirectorate-General of networks and cooperative research Centers, the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness, the Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI RD16/0016/0003), and by the Health Research Fund, the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (grants FIS PI14/01838 and PI18/00685), and the European Regional Development Fund (ERDF).

Conflict of interest

All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial interest or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

Accepted Manuscript

References

1. Shi, T.; McAllister, D.A.; O'Brien, K.L.; Simoes, E.A.F.; Madhi, S.A.; Gessner, B.D.; Polack, F.P.; Balsells, E.; Acacio, S.; Aguayo, C., et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. *Lancet* **2017**, *390*, 946-958, doi:10.1016/s0140-6736(17)30938-8.
2. Gimferrer, L.; Vila, J.; Piñana, M.; Andrés, C.; Rodrigo-Pendás, J.A.; Peremiquel-Trillas, P.; Codina, M.G.; MD, C.M.; Esperalba, J.; Fuentes, F., et al. Virological surveillance of human respiratory syncytial virus A and B at a tertiary hospital in Catalonia (Spain) during five consecutive seasons (2013-2018). *Future Microbiol* **2019**, *14*, 373-381, doi:10.2217/fmb-2018-0261.
3. Laham, F.R.; Mansbach, J.M.; Piedra, P.A.; Hasegawa, K.; Sullivan, A.F.; Espinola, J.A.; Camargo, C.A., Jr. Clinical Profiles of Respiratory Syncytial Virus Subtypes A and B Among Children Hospitalized with Bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J* **2017**, *36*, 808-810, doi:10.1097/inf.0000000000001596.
4. Midulla, F.; Nenna, R.; Scagnolari, C.; Petrarca, L.; Frassanito, A.; Viscido, A.; Arima, S.; Antonelli, G.; Pierangeli, A. How Respiratory Syncytial Virus Genotypes Influence the Clinical Course in Infants Hospitalized for Bronchiolitis. *J Infect Dis* **2019**, *219*, 526-534, doi:10.1093/infdis/jiy496.
5. Ciarlitto, C.; Vitucci, A.C.; Antilici, L.; Concato, C.; Di Camillo, C.; Zangari, P.; Villani, A. Respiratory Syncytial Virus A and B: three bronchiolitis seasons in a third level hospital in Italy. *Ital J Pediatr* **2019**, *45*, 115, doi:10.1186/s13052-019-0704-0.
6. Vila, J.; Lera, E.; Peremiquel-Trillas, P.; Martínez, L.; Barceló, I.; Andrés, C.; Rodrigo-Pendás, J.A.; Antón, A.; Rodrigo, C. Management of Hospitalized Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in the Pediatric Ward in Spain: Assessing the Impact of a New Clinical Practice Protocol. *Pediatric Drugs* **2022**, *24*, 63-71.
7. Balaguer, M.; Alexandre, C.; Vila, D.; Esteban, E.; Carrasco, J.L.; Cambra, F.J.; Jordan, I. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu: BROSJOD Score, validation and usefulness. *Pediatr Pulmonol* **2017**, *52*, 533-539, doi:10.1002/ppul.23546.
8. Bonett, D.G.; Price, R.M. Statistical inference for a linear function of medians: confidence intervals, hypothesis testing, and sample size requirements. *Psychol Methods* **2002**, *7*, 370-383, doi:10.1037/1082-989x.7.3.370.
9. Rijsbergen, L.C.; Lamers, M.M.; Comvalius, A.D.; Koutstaal, R.W.; Schipper, D.; Duprex, W.P.; Haugmans, B.L.; de Vries, R.D.; de Swart, R.L. Human Respiratory Syncytial Virus Subgroup A and B Infections in Nasal, Bronchial, Small-Airway, and Organoid-Derived Respiratory Cultures. *mSphere* **2021**, *6*, doi:10.1128/mSphere.00237-21.
10. Rodríguez-Fernández, R.; Tapia, L.I.; Yang, C.F.; Torres, J.P.; Chavez-Bueno, S.; Garcia, C.; Jaramillo, L.M.; Moore-Clingenpeel, M.; Jafri, H.S.; Peeples, M.E., et al. Respiratory Syncytial Virus Genotypes, Host Immune Profiles, and Disease Severity in Young Children Hospitalized With Bronchiolitis. *J Infect Dis* **2017**, *217*, 24-34, doi:10.1093/infdis/jix543.
11. Hasegawa, K.; Jartti, T.; Mansbach, J.M.; Laham, F.R.; Jewell, A.M.; Espinola, J.A.; Piedra, P.A.; Camargo, C.A., Jr. Respiratory syncytial virus genomic load and disease severity among children hospitalized with bronchiolitis: multicenter cohort studies in the United States and Finland. *J Infect Dis* **2015**, *211*, 1550-1559, doi:10.1093/infdis/jiu658.
12. Piret, J.; Boivin, G. Viral Interference between Respiratory Viruses. *Emerg Infect Dis* **2022**, *28*, 273-281, doi:10.3201/eid2802.211727.
13. Di Caprio, A.; Coccolini, E.; Zagni, P.; Vaccina, E.; Lucaccioni, L.; Lugli, L.; Iughetti, L.; Berardi, A. Pneumococcal septic shock after neonatal respiratory syncytial virus bronchiolitis: A case report and literature review. *Acta Biomed* **2021**, *92*, e2021111, doi:10.23750/abm.v92iS1.11209.
14. Smith, C.M.; Sandrini, S.; Datta, S.; Freestone, P.; Shafeeq, S.; Radhakrishnan, P.; Williams, G.; Glenn, S.M.; Kuipers, O.P.; Hirst, R.A., et al. Respiratory syncytial virus increases the virulence of *Streptococcus pneumoniae* by binding to penicillin binding protein 1a. A new paradigm in respiratory infection. *Am J Respir Crit Care Med* **2014**, *190*, 196-207, doi:10.1164/rccm.201311-2110OC.

Table 1. Seasonal number of cases and demographic and clinical characteristics of patients hospitalized for RSV-A and RSV-B bronchiolitis between 2014 and 2018.

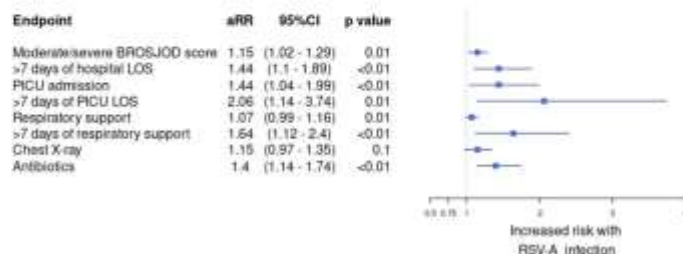
Cohort characteristics		RSV-A, n (%)^{1,2}	RSV-B, n (%)¹	Total, n (%)		
<i>N</i>		322 (46.9)	365 (53.1)	687 (100.0)		
Season	2014-2015	57 (34.6)	108 (65.4)	165 (24.0)		
	2015-2016	127 (79.4)	33 (20.6)	160 (23.3)		
	2016-2017	92 (50.3)	91 (49.7)	183 (26.6)		
	2017-2018	46 (25.7)	133 (74.3)	179 (26.1)		
Sex	Male	186 (57.8)	193 (52.9)	379 (55.2)		
Median age (days) ²		80.5 (35-194)	85 (41-208)	86 (39-215)		
Age	< 3 months	172 (53.4)	186 (51.0)	358 (52.1)		
	3 to 12 months	115 (35.7)	145 (39.7)	260 (37.9)		
	> 12 months	35 (10.9)	34 (9.3)	69 (10.0)		
Prematurity (<34 weeks' gestation)		27 (8.4)	27 (7.4)	54 (7.9)		
Comorbidities ³		15 (4.7)	13 (3.6)	28 (4.1)		
Clinical characteristics		RSV-A, n (%)²	RSV-B, n (%)²	Total, n (%)	RR (95% CI)⁴	P-value⁵
<i>N</i>		322 (46.9)	365 (53.1)	687 (100.0)		
Severity score at admission ⁶	Mild	98 (30.4)	140 (38.4)	238 (34.6)	REF	
	Moderate or severe	224 (69.6)	225 (61.6)	449 (65.4)	1.12 (1.01-1.26)	0.03
Hospital length of stay (days) ⁷	≤ 7 days	5 (3-8)	4 (3-7)	5 (3-7)	1 (0.30-1.70)	<0.01
	> 7 days	228 (70.8)	289 (79.2)	517 (75.3)	REF	
	> 7 days	94 (29.2)	76 (20.8)	170 (24.7)	1.40 (1.08-1.82)	0.01
PICU admission	Yes	73 (22.7)	58 (15.9)	131 (19.1)	1.43 (1.05-1.95)	0.02
PICU length of stay (days) ⁷	≤ 7 days	5 (4-10)	4 (3-6)	5 (3-9)	1 (-0.92-2.92)	0.31
	> 7 days	45 (61.6)	45 (77.6)	90 (68.7)	REF	
	> 7 days	28 (38.4)	13 (22.4)	41 (31.3)	1.71 (0.98-3.00)	0.05
Respiratory support and type		268 (83.2)	280 (76.7)	548 (79.8)	1.09 (1.01-1.17)	0.03
	Non-invasive sources of oxygen ⁷	242 (90.3)	269 (96.1)	511 (93.2)	0.94 (0.90-0.98)	<0.01
	IMV	26 (9.7)	11 (3.9)	37 (6.8)	2.46 (1.25-4.90)	<0.01
Duration of respiratory support (days) ^{2,8}		5 (3-7)	4 (2-6)	4 (2-6)	1 (0.31-1.69)	<0.01
Respiratory support > 7 days	Yes	64 (23.9)	39 (13.9)	103 (18.8)	1.71 (1.19-2.46)	<0.01
Chest X-ray	Yes	163 (50.6)	162 (44.4)	325 (47.3)	1.14 (0.97-1.34)	0.10

Antibiotics	Yes	135 (41.9)	113 (31.0)	248 (36.1)	1.35 (1.11-1.65)	<0.01
-------------	-----	------------	------------	------------	------------------	-------

95% CI: 95% confidence interval; IMV: invasive mechanical ventilation; PICU: pediatric intensive care unit; REF: reference category for relative risk assessment; RR: relative risk; RSV: respiratory syncytial virus.¹Column percentage, except for the season and the total, where row percentage is used. ²Median (interquartile range).³Congenital heart disease, bronchopulmonary dysplasia and other chronic respiratory diseases, immunodeficiency, or immunosuppression and, chronic neurological disease. ⁴Median (interquartile range) for continuous variables. ⁵For continuous variables, difference between medians (95% CI) is used instead of RR. ⁶The p-value corresponds to the relative risk (see the statistical analysis section) or the difference between medians, depending on the case. ⁷According to the Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu (Balaguer M, et al. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu: BROSJOD Score, validation, and usefulness. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52(4):533–539). ⁸Non-invasive sources of oxygen include conventional oxygen, high flow nasal cannula and non-invasive mechanical ventilation. ⁹One patient continued with respiratory support after discharge.

Accepted Manuscript

Figure 1



Accepted Manuscript

Downloaded from <https://academic.oup.com/jids/advance-article/doi/10.1093/jids/ibab009/7028502> by guest on 16 February 2023

Supplementary Table 1. Summary of the Poisson regression models.

		Adjusted Relative Risk (95% CI) of the study severity outcomes							
		Moderate and Severe BROSJOD Score	Hospital length of stay >7 days	PICU admission	PICU length of stay >7 days	Respiratory support required	Respiratory support >7 days	Antibiotics use	Chest X-ray performance
Sex	<i>Female (REF)</i>	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF
	<i>Male</i>	1.18 (1.05-1.32)	1.23 (0.95 - 1.60)	1.46 (1.06 - 2.01)	0.82 (0.49 - 1.36)	1.11 (1.03-1.20)	1.53 (1.05-2.23)	1.03 (0.85-1.26)	1.02 (0.87-1.19)
Age	<i><3 months (REF)</i>	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF
	<i>3 to 12 months</i>	1.12 (1.00-1.26)	0.42 (0.30 - 0.58)	0.33 (0.22 - 0.50)	0.43 (0.17 - 1.07)	0.91 (0.84-0.99)	0.31 (0.19-0.52)	1.02 (0.83-1.27)	1.08 (0.91-1.28)
	<i>>12 months</i>	1.17 (0.99-1.40)	0.19 (0.08 - 0.45)	0.13 (0.04 - 0.39)	0.57 (0.10 - 3.29)	0.96 (0.84-1.09)	0.19 (0.07-0.55)	1.28 (0.92-1.77)	1.47 (1.17-1.85)
Season	<i>2014-2015 (REF)</i>	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF
	<i>2015-2016</i>	1.00 (0.85-1.17)	0.68 (0.49 - 0.95)	0.87 (0.58 - 1.32)	0.65 (0.35 - 1.19)	1.07 (0.96-1.19)	0.79 (0.51-1.21)	0.70 (0.53-0.92)	0.75 (0.61-0.93)
	<i>2016-2017</i>	0.87 (0.74-1.03)	0.62 (0.43 - 0.89)	0.59 (0.37 - 0.96)	0.49 (0.20 - 1.19)	0.89 (0.78-1.00)	0.66 (0.39-1.12)	0.60 (0.46-0.79)	0.62 (0.50-0.77)
	<i>2017-2018</i>	1.07 (0.92-1.24)	0.66 (0.46 - 0.93)	0.94 (0.63 - 1.41)	0.58 (0.27 - 1.21)	1.06 (0.95-1.17)	0.60 (0.36-0.99)	0.66 (0.50-0.87)	0.65 (0.52-0.81)
Prematurity (<34week)	<i>No (REF)</i>	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF
	<i>Yes</i>	1.10 (0.91-1.31)	1.56 (1.03 - 2.38)	1.58 (0.96 - 2.60)	1.40 (0.66 - 2.99)	1.11 (0.99-1.24)	1.25 (0.67-2.35)	1.01 (0.68-1.50)	1.15 (0.87-1.49)
Comorbidities	<i>No (REF)</i>	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF
	<i>Yes</i>	0.88 (0.66-1.18)	2.01 (1.12 - 3.61)	2.56 (1.27 - 5.17)	1.89 (0.54 - 6.55)	0.96 (0.79-1.18)	1.91 (0.72-5.10)	0.93 (0.57-1.53)	1.15 (0.87-1.49)
RSV type	<i>RSV-B</i>	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF	REF
	<i>RSV-A</i>	1.15 (1.02-1.29)	1.44 (1.10 - 1.89)	1.44 (1.04 - 1.99)	2.06 (1.14 - 3.74)	1.07 (0.99-1.16)	1.64 (1.12-2.41)	1.40 (1.14-1.74)	1.15 (0.97-1.35)

95%CI: 95% confidence interval; PICU: paediatric intensive care unit; REF: reference category for RR assessment; RR: relative risk.

3. ESTUDIO 3

Título: Management of hospitalized respiratory syncytial virus bronchiolitis in the pediatric ward in Spain: assessing the impact of a new clinical practice protocol

Año de publicación: 2022

Revista: Pediatric Drugs

Factor de impacto (2021): 3,970

Cuartil (2021): Q2

Posición en la bibliografía de esta tesis: (141)

Referencia: Vila J, Lera E, Peremiquel-Trillas P, Martínez L, Barceló I, Andrés C, et al. Management of Hospitalized Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in the Pediatric Ward in Spain: Assessing the Impact of a New Clinical Practice Protocol. *Pediatr Drugs*. 2022;24(1):63–71.



Management of Hospitalized Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in the Pediatric Ward in Spain: Assessing the Impact of a New Clinical Practice Protocol

Jorgina Vila^{1,2} · Esther Lera^{2,3} · Paula Peremiquel-Trillas^{4,5} · Laia Martínez⁶ · Irene Barceló⁶ · Cristina Andrés⁷ · José Ángel Rodrigo-Pendás⁴ · Andrés Antón⁷ · Carlos Rodrigo^{2,8,9}

Accepted: 29 November 2021 / Published online: 22 December 2021
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Switzerland AG 2021

Abstract

Background Bronchiolitis caused by the respiratory syncytial virus (RSV) is the main reason for hospitalization in infants. Supportive care is the mainstay of treatment, and tests are restricted to a few indications. During 2015, our hospital bronchiolitis protocol (2015 HBP) was updated according to the latest practice guidelines.

Objective The objective of this study was to assess implementation of the 2015 HBP and the clinical outcome of children aged ≤ 24 months with RSV bronchiolitis admitted to a pediatric ward.

Methods We compared the use of treatments and tests, hospital length of stay (LOS), and oxygen requirements before implementation of the 2015 HBP (2014–2015 and 2015–2016 seasons) and after implementation (2016–2017 and 2017–2018 seasons).

Results The study population comprised 251 children (44.90%) in the first period and 308 (55.10%) in the second (median age 99 days, interquartile range 44–233). After implementation of the 2015 HBP, a statistically significant reduction was found in the percentage of patients undergoing the following treatments or diagnostic tests: salbutamol, from 57.77 to 31.17% ($p < 0.001$); epinephrine, from 61.75 to 1.30% ($p < 0.001$); 3% hypertonic saline, from 70.12 to 6.82% ($p < 0.001$); antibiotics, from 33.07 to 23.05% ($p = 0.008$); and chest X-ray, from 43.82 to 31.17% ($p = 0.001$). No statistically significant reductions were observed in the use of corticosteroids and blood tests. Hospital LOS and oxygen requirements were similar in each period.

Conclusions Appropriate implementation of the 2015 HBP in the pediatric ward improves the use of medication and chest X-ray without modifying clinical outcomes. However, further efforts are needed to reduce the use of salbutamol, corticosteroids, and blood tests.

1 Introduction

Acute bronchiolitis is the most common lower respiratory tract infection in infancy and the leading reason for hospitalization in infants aged < 1 year [1]. Bronchiolitis is caused by viral infection, with respiratory syncytial virus (RSV) being the most common etiological agent. RSV is responsible for 70–80% of all cases of bronchiolitis, either alone or in coinfection with other respiratory viruses [1–3]. In Spain, as in other temperate countries, RSV causes annual epidemics during the autumn–winter months (epidemiological week 42 to week 15, with peak detection between weeks 52 and 53)

[4, 5]. Based on genetic divergence in the G protein-coding sequence, RSV viruses can be divided into two genetic groups, RSV-A and RSV-B. Both groups co-circulate in the same season, with prevalence values alternating between the seasons [4, 6].

Pediatric primary care centers, emergency departments, hospitalization units, and pediatric intensive care units (PICUs) can be overwhelmed during an RSV-related bronchiolitis epidemic [7]. The associated healthcare costs of bronchiolitis are high, not only because of the number of patients who receive medical care, but also because treatments and tests are not often performed according to the latest available evidence [8, 9]. Bronchiolitis is diagnosed on the basis of the clinical history and physical examination, with chest X-rays and blood tests being indicated only in specific situations [10]. Treatment is mainly supportive,

✉ Jorgina Vila
jorvila@vhebron.net

Extended author information available on the last page of the article

Key Points

Diagnosis of viral bronchiolitis is based upon clinical findings, and treatment is mainly supportive. The use of nebulized medicines and corticosteroids to treat bronchiolitis does not seem to improve clinical course or severity.

After the publication and dissemination of a reviewed hospital bronchiolitis protocol, we observed a considerable reduction in the use of nebulized treatments, chest X-ray, and antibiotics in children cared for in a pediatric ward in Spain. Appropriate implementation of the protocol does not seem to modify clinical outcome.

Hospital bronchiolitis protocols can harmonize management of bronchiolitis and reduce the use of treatments and tests that are not indicated. This approach helps to reduce healthcare expenditure, the probability of adverse effects, and the damage arising from the performance of additional tests.

and oxygen and hydration constitute the pillars of clinical management. Pharmaceutical treatments, such as salbutamol, epinephrine, and corticosteroids should not be used, 3% hypertonic saline (3HS) can be used in specific situations, and antibiotics are only indicated if a bacterial coinfection is confirmed or highly suspected [11–15]. Management of bronchiolitis varies widely, not only between countries, but also between hospitals in the same country [16]; therefore, it is essential to unify diagnostic and therapeutic criteria [8, 17]. After the publication of the latest bronchiolitis guidelines [11, 15], some studies in Spain analyzed their application in emergency departments [18] and PICUs [19], although little is known about the clinical management of bronchiolitis on hospital wards.

Our hospital bronchiolitis protocol (HBP) was edited in 2015 (the previous HBP was drafted in 2010) following the 2014 American Academy of Pediatrics (AAP) guidelines [11] and the National Institute for Health and Care Excellence (NICE) guidelines [15]. The 2015 HBP recommends nebulized treatments in severe cases according to the Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu (BROSJOD), and there was no place for corticosteroids [20] (Online Resource 1). The 2015 HBP was disseminated through educational interventions from specialists from the participating clinical departments, namely, the emergency unit, the pulmonology unit, the hospitalization unit, and the PICU.

The main objective of this study was to assess changes in the use of medications, chest X-ray, and blood tests in patients with RSV bronchiolitis hospitalized in the pediatric ward after the application of the 2015 HBP. As a secondary

objective, we aimed to evaluate modifications in hospital length of stay (LOS) and oxygen requirements after the application of the 2015 HBP.

2 Materials and Methods

2.1 Study Design and Settings

We conducted a retrospective cohort study of infants hospitalized in the pediatric ward with RSV bronchiolitis in a tertiary pediatric hospital in Barcelona (Spain) from season 2014–2015 to season 2017–2018. Those patients attending and discharged from the emergency unit and those admitted directly to the PICU were excluded. We compared clinical practice and the patients' clinical course between the periods before implementation of the 2015 HBP (seasons 2014–2015 and 2015–2016) and after implementation (seasons 2016–2017 and 2017–2018). Each season covered October (epidemiological week 40) to May (epidemiological week 20).

2.2 HBP Design and Implementation

Our HBP was drafted by a group of clinicians from the units caring for patients with bronchiolitis, namely, the emergency unit, PICU, pulmonology unit, and hospitalization unit. The indications for the use of medicines and tests were taken from the 2014 AAP guidelines [11] and the 2015 NICE guidelines [15]. PICU admission criteria and respiratory support indications were agreed upon based on available scientific evidence.

The HBP was sent by e-mail to all pediatric clinicians in late 2015 and was published for clinicians' online access and consultation on the hospital webpage (personal access only). During the 2015–2016 season, clinical sessions were provided for clinicians caring for affected patients to present the protocol and resolve queries. Once the HBP had been implemented, patients admitted to the pediatric ward were reviewed daily to reinforce the protocol indications.

2.3 Patients and Data Collection

The study population comprised all patients aged ≤ 24 months with clinical bronchiolitis and a laboratory-confirmed RSV infection requiring hospitalization in the pediatric ward between the 2014–2015 and 2017–2018 seasons. Cases requiring admission to the PICU and those cared for in and discharged from the emergency unit were excluded from the main analysis. Patients were initially identified based on positive RSV results from the microbiology department. Thereafter, patients were identified by reviewing clinical records, and those aged ≤ 24 months with bronchiolitis

were included. Bronchiolitis was defined as the first episode of viral lower respiratory tract infection in an infant aged < 2 years [15]. A post hoc analysis excluding patients > 12 months of age was performed to identify differences according to age. In addition, a post hoc analysis of those patients transferred to the PICU from the pediatric ward was performed.

Routine detection of RSV was based on nasopharyngeal aspirates and testing with a direct immunofluorescent antigen detection kit (D3 Ultra 8™ DFA Respiratory Virus Screening and Identification Kit, Diagnostic HYBRIDS, USA) or a real-time multiplex RT-PCR assay (Anyplex™ II RV16 Detection kit, Seegene, South Korea, during the 2014–2015 season, and Allplex™ Respiratory Panel assay, Seegene, South Korea, thereafter). Rapid RSV detection, especially during annual epidemics, was with an immunofluorescent assay (Sofia RSV FIA, Quidel, CA, USA) or a rapid molecular test (GeneXpert Flu or Flu/RSV XC, Cepheid, CA, USA). If the rapid test was negative, the study was extended to laboratory confirmation of other respiratory viruses. In the case of RSV-positive samples, the genetic group (RSV-A or RSV-B) was assessed using the same real-time multiplex PCR assay as for routine laboratory confirmation, which was able to distinguish between them, or using a specific real-time PCR-based technique for RSV typing, as described in Gimferrer et al. [4].

Demographic and clinical data were gathered retrospectively from electronic clinical records and included the following: date of birth, sex, comorbidities (congenital heart disease, chronic pulmonary disease, immunosuppression, chronic neurologic disease), prematurity (< 34 weeks), BROSJOD severity score at admission (mild, moderate, or severe) [20], dates of hospital admission and discharge, PICU admission, need for respiratory support and type of maximum support required, date of initiation and cessation of respiratory support, treatments received, and tests performed (chest X-ray and/or blood test). The treatments evaluated were nebulized salbutamol, nebulized epinephrine, nebulized 3HS, systemic corticosteroids (oral and/or intravenous), and antibiotics. Respiratory support included oxygen through a nasal cannula or high-flow nasal cannula (HFNC) and non-invasive mechanical ventilation. The patient's outcome was assessed according to the hospital LOS, the need for and duration of respiratory support, and the maximum respiratory support required. All the information was stored in an anonymized database.

2.4 Statistical Analysis

A univariate analysis was performed to describe the characteristics of the patients included in the study. Categorical variables were expressed using frequencies and percentages; continuous variables were expressed as median and

interquartile range (IQR). For purposes of the analysis, some numerical variables were transformed to categorical variables. In the bivariate analysis, the effect of the intervention on categorical variables was measured with the percentage of change and its 95% confidence interval (CI). The formula used for calculating the percentage of change was as follows: (proportion in the first period—proportion in the second period)/proportion in the first period, which is mathematically equivalent to the following: 1—relative risk (proportion in the second period/proportion in the first period). The effect on continuous variables was measured by calculating the difference in medians with its 95% CI based on the Bonnett-Price method [21]. A *p* value < 0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed using Stata v16 software (StataCorp. 2019, Stata Statistical Software: Release 16, College Station, TX, USA: StataCorp LP).

3 Results

The study population comprised 559 hospitalized children aged ≤ 24 months of age with laboratory-confirmed RSV bronchiolitis, that is, 5.88% of all patients admitted to the pediatric ward (559/9501) during the study period. Of the 559 patients, 44.90% (*N* = 251) were admitted before implementation of the 2015 HBP and 55.10% (*N* = 308) after implementation, and 52.59% (*N* = 294) were male.

RSV cases belonging to both viral genetic groups were reported during both periods, although their incidence was variable across the seasons. While RSV-A was responsible for 55.78% (*N* = 140) of hospital admissions for bronchiolitis in the first period, RSV-B was the predominant genetic type in the second (63.96%) (Table 1).

Median age was 99 days (IQR 44–233), with 68.69% of patients (*N* = 384) aged ≤ 6 months at admission. In addition, 7.51% (*N* = 42) were born prematurely, and 3.76% (*N* = 21) had previous comorbidities. The median age of the hospitalized patients was higher in the second period (118 vs 84 days), while values for sex, prematurity, and patients with previous chronic conditions were similar between periods. The BROSJOD severity score at admission was similar for both periods: 55.81% moderate (*N* = 312), 39.36% mild (*N* = 220), and only 4.47% severe (*N* = 25) (Table 1).

3.1 Use of Pharmacological Treatments and Diagnostic Tests

The frequency of use of medications decreased considerably during the study period, especially for nebulized treatments. Statistically significant decreases were observed in the second period in the percentage of patients treated with epinephrine, 3HS, salbutamol, and antibiotics (97.9, 90.28,

46.05, and 30.29%, respectively) (Table 2). The percentage of patients treated with antibiotics in the second period coincided with a reduction in the number of chest X-rays performed (28.87%; $p < 0.001$). Likewise, more modest and non-statistically significant decreases were recorded in the percentage of patients treated with corticosteroids and those who underwent a blood test (reductions of 9.45 and 4.47%, respectively) (Table 2). Similar results were obtained in the post hoc analysis, once patients over 12 months of age were excluded (see the electronic supplementary material, Online Resource 2), although reductions in the use of salbutamol and antibiotics were higher (55.58 and 39.37%, respectively), coinciding also with a 36.23% decrease in the frequency of chest X-rays. The decrease in the frequency of corticosteroids was higher among younger patients (38.46%), although the differences were not statistically significant ($p = 0.086$).

3.2 Patients' Clinical Outcome

Median hospital LOS was 4 days (IQR 3–6), with 46.15% of the cases hospitalized for a period of 4–7 days ($N = 258$). After implementation of the new protocol, the median LOS

did not vary. However, during the second period, the proportion of patients with stays shorter than 4 days increased by 24.53% ($p = 0.037$).

Up to 75.13% of admitted patients required respiratory support, with no striking difference between the two periods (78.49% in the first period and 72.40% in the second, $p = 0.097$). The median duration of respiratory support was 3 days (IQR 2–5) in both periods. In the second period, the proportion of patients with HFNC increased substantially (18.78–41.07%, $p < 0.001$) (Table 2).

In the post hoc analysis, from 128 patients with RSV bronchiolitis admitted to the PICU during the study period, 24 out of 74 in the first period and 16 out of 54 in the second were transferred from the pediatric ward, while the rest were admitted directly from the emergency unit or from another hospital ($p = 0.484$).

4 Discussion

This study reviews the impact on daily clinical practice of a new hospital protocol based on the latest bronchiolitis practice guidelines and after an educational intervention.

Table 1 Clinical and epidemiological characteristics before and after the 2015 HBP

	Before 2015 HBP (2014–2015 and 2015–2016) Number of patients (%) ^a	After 2015 HBP (2016–2017 and 2017–2018) Number of patients (%) ^a
Total	251	308
RSV-A	140 (55.78%)	111 (36.04%)
RSV-B	111 (44.22%)	197 (63.96%)
Male sex	132 (52.59%)	162 (52.60%)
Age (days) ^b	84 (37–177)	118 (52–276)
Age		
< 1 month	41 (16.33%)	31 (10.06%)
1–3 months	61 (24.30%)	63 (20.45%)
4–6 months	88 (35.06%)	100 (32.47%)
7–12 months	40 (15.94%)	69 (22.40%)
> 12 months	21 (8.37%)	45 (14.61%)
Prematurity (< 34 weeks gestation)	16 (6.37%)	26 (8.44%)
Comorbidities	9 (3.59%)	12 (3.90%)
Severity score at admission ^c		
Mild	100 (39.84%)	120 (38.96%)
Moderate	143 (56.97%)	169 (54.87%)
Severe	7 (2.79%)	18 (5.84%)

HBP hospital bronchiolitis protocol, RSV respiratory syncytial virus

^aColumn percentage

^bMedian (interquartile range)

^cAccording to Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu (BROSJOD) [20]; numbers do not add up as two values were missing

Table 2 Use of medications and tests and outcomes before and after the 2015 HBP

	Before 2015 HBP (2014–2015 and 2015–2016) Number of patients (%)	After 2015 HBP (2016–2017 and 2017–2018) Number of patients (%)	Percentage change ^a (95% CI)	<i>p</i> value ^b
Total	251	308		
Epinephrine	155 (61.75%)	4 (1.30%)	↓ 97.90% (↓ 94.41–↓ 99.21)	< 0.001
3% hypertonic saline	176 (70.12%)	21 (6.82%)	↓ 90.28% (↓ 85.52–↓ 93.62)	< 0.001
Salbutamol	145 (57.77%)	96 (31.17%)	↓ 46.05% (↓ 34.32–↓ 55.69)	< 0.001
Antibiotics	83 (33.07%)	71 (23.05%)	↓ 30.29% (↓ 8.73–↓ 46.76)	0.008
Corticosteroids	36 (14.34%)	40 (12.99%)	↓ 9.45% (↑ 37.57–↓ 40.41)	0.642
Chest X-ray	110 (43.82%)	96 (31.17%)	↓ 28.87% (↓ 11.63–↓ 42.76)	0.001
Blood tests	110 (44.06%)	129 (41.88%)	↓ 4.47% (↑ 15.81–↓ 21.14)	0.644
Hospital length of stay (days)	4 (3–6) ^c	4 (3–6) ^c	0 (– 0.48 to 0.48) ^d	1
Hospital length of stay				
≤ 3 days	89 (35.46%)	136 (44.16%)	↑ 24.53% (↑ 1.05–↑ 53.46)	0.037
4–7 days	124 (49.40%)	134 (43.51%)	↓ 11.94% (↑ 5.28–↓ 26.33)	0.164
≥ 8 days	38 (15.14%)	38 (12.34%)	↓ 18.51% (↑ 23.73–↓ 46.33)	0.336
Use of respiratory support	197 (78.49%)	223 (72.40%)	↓ 7.75% (↑ 1.40–↓ 16.08)	0.097
Type of maximum respiratory support required ^e				
Nasal cannula	160 (81.22%)	129 (57.85%)	↓ 28.78% (↓ 18.84–↓ 37.50)	< 0.001
HFNC	37 (18.78%)	93 (41.70%)	↑ 122.05% (↑ 59.75–↑ 208.62)	< 0.001
NIMV	0 (0.00%)	1 (0.45%) ^f	–	–
Duration of respiratory support (days) ^g	3 (2–5) ^c	3 (2–5) ^c	0 (– 0.69 to 0.69) ^d	1
> 7 days ^h	11 (5.58%)	14 (6.28%)	↑ 14.00% (↓ 47.19–↑ 146.12)	0.738

CI confidence interval, HBP hospital bronchiolitis protocol, HFNC high-flow nasal cannula, NIMV non-invasive mechanical ventilation

^aThe arrows indicate an increase (↑) or decrease (↓) in the percentage in the variable during the second period

^bThe *p* value corresponds to the relative risk (see the “Statistical Analysis” section) or the difference in medians, depending on the case

^cMedian (interquartile range)

^dDifference in medians (95% CI)

^ePercentages calculated based on the total number of patients receiving respiratory support

^fThe patient had chronic lung disease and was receiving NIMV at home. However, because of an exacerbation, the patient was admitted to hospital, and ventilator settings were increased

^gThere are two missing values in the second period

Patient outcomes before and after implementation were also analyzed. The results show a considerable improvement in the management of patients hospitalized with bronchiolitis in terms of use of salbutamol, epinephrine, 3HS, antibiotics, and chest X-ray, thus suggesting that HBP and educational interventions were successful in changing clinical practice. Hospital LOS, as well as need for and duration of respiratory support, remained unchanged, indicating, like in previous studies, that the nebulized medications evaluated do not reduce severity or improve the course of bronchiolitis in children hospitalized in the pediatric ward [11, 14, 22].

Bronchiolitis was slightly more frequent in males (52.59%), according to previous reports that suggest that respiratory tract infections tend to be more common and severe in males than in females [1, 10]. Both types of RSV co-circulate every season, with RSV-A predominating in the first period and RSV-B in the second. In Catalonia and other

regions, both RSV types circulate simultaneously, although each season, one type tends to be more prevalent than the other [4, 23]. Age ≤ 6 months, prematurity, and previous chronic conditions are known risk factors for severe bronchiolitis [10]. In our study, the children were older, had fewer comorbid conditions, and were less likely to be born prematurely than in previous studies on hospitalized bronchiolitis, in which 90% were under 5 months of age, 10% were born prematurely, and 20% had previous chronic conditions [1, 24]. These differences can be explained by the exclusion of patients admitted to the PICU, who had more severe disease. For the same reason, disease was severe in only 4.47% at admission according to the BROSJOD score.

Treatments such as systemic corticosteroids, β₂-agonists, and epinephrine have been proven ineffective for the treatment of bronchiolitis [22]. Previous studies and meta-analyses on the efficacy of 3HS showed the drug to be beneficial

in reducing hospital LOS when administered for ≥ 3 days. Therefore, the AAP 2014 guidelines recommended 3HS only in hospitalized patients [11–13]. However, since these benefits could not be confirmed in subsequent studies, 3HS was not recommended for any indications in the 2015 NICE guidelines [14, 15]. Because of the initial doubts concerning the benefits of 3HS and given that these studies include mild-moderate bronchiolitis, the 2015 HBP recommends 3HS only for severe cases.

Previous studies carried out in hospitalized bronchiolitis patients also showed an improvement in the use of medications after the publication of the guidelines. In England, a similar study investigated the improvement in clinical practice after the 2015 NICE guidelines [15] and found a decrease in the use of salbutamol (from 47 to 30%), 3HS (from 55 to 33%), corticosteroids (from 7 to 2%), and epinephrine (from 22 to 12%) [25]. Another study conducted in the United States after implementation of the 2006 AAP guidelines showed a reduction in the use of nebulized medications (from 64.6 to 58%) and corticosteroids (from 24.7 to 16.3%) [26]. The results of these and previous studies seem to demonstrate clinicians' acceptance of bronchiolitis practice guidelines and protocols. However, we found that pharmacological treatments such as corticosteroids and salbutamol were used considerably more frequently in our hospital than epinephrine and 3HS and that the reduction in the use of corticosteroids and salbutamol was much higher in children aged ≤ 12 months. Previous studies found corticosteroids and salbutamol to be more common for bronchiolitis in children aged 13–24 months, probably because symptoms overlap with acute wheezing in some cases [16]. The inclusion of patients aged 13–24 months can explain why the reduction in the use of corticosteroids and salbutamol was much less significant than for epinephrine or 3HS. In addition, difficulty avoiding the use of medicines in clinical practice (e.g., when an infant with breathing difficulties is accompanied with anxious parents requesting treatment), can partially explain the continued frequent use of these medicines [27]. Further efforts with educational interventions for clinicians should be carried out to reduce the use of salbutamol and corticosteroids, as with 3HS and epinephrine, especially in children aged > 1 year.

Another remarkable result was the decline in the use of antibiotics, which was probably more related to the reduction in the use of the chest radiographs than to a decrease in the prevalence of antibiotic therapy in hospitalized pediatric patients. According to the EPINE study ("Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España"), the prevalence in the use of antibiotic therapy in hospitalized pediatric patients did not change substantially from 2014 to 2018 (43.35, 52.08, 44.22, and 42.25%, respectively) [Dr. JA Rodrigo-Pendás, personal communication]. Chest X-ray is not routinely recommended, since it does not improve

diagnosis or treatment and atelectasis or unspecific images are often confused with pneumonia, thus increasing administration of unnecessary antibiotics [28]. Although antibiotics were administered less frequently during the second period, this reduction was not as pronounced as for epinephrine or 3HS, probably because of the number of chest X-rays that were still being performed.

A blood test was performed in 43% of the study population, which is higher than expected. Blood tests in bronchiolitis are only indicated in children aged < 1 month with fever or if a serious bacterial infection is suspected, although this is extremely rare in vaccinated infants aged > 1 month with RSV bronchiolitis [11, 15, 22, 29, 30]. Only 12.88% of the patients in our study were aged < 1 month, suggesting that most of these blood tests were not indicated. The blood tests were probably performed in children with fever to identify analytical signs of bacterial coinfection, although the probability of detecting a bacterial coinfection is low, as reported in the abovementioned studies.

Approximately 70–90% of cases of hospitalized RSV-induced bronchiolitis require oxygen supplementation, with a mean hospital LOS of 5–6 days, which is similar to the figure we reported [1, 2, 31]. These clinical outcomes and the number of patients that required PICU admission from the ward remained unchanged despite differences in the management of bronchiolitis during the study, showing that modifications in clinical practice were not followed by deterioration of bronchiolitis. The indication for HFNC did not change between 2010 and 2015 HBP. This therapy was limited to a few patients admitted to the pediatric ward until mid-2015; before this period, HFNC was only available in the PICU. From that moment on, its increasing availability in the pediatric ward—rather than the severity of the clinical features—might account for its more frequent use in the second period. Despite the higher use of HFNC in the second period, hospital LOS and the number of patients from the ward that required PICU admission were similar between periods. HFNC is a safe therapy, but some doubts exist about the benefits in clinical evolution when compared with conventional oxygen [32].

The application of clinical practice guidelines aims to improve the quality of healthcare and has direct benefits for patients and healthcare costs by reducing the probability of adverse effects, the damage resulting from additional tests, and the healthcare expenditure [9]. Hospital protocols are necessary, although it is also important to raise awareness about the benefits of supportive measures and the disadvantages of unnecessary pharmacological treatments through clinical sessions and other educational interventions [28, 33]. Evaluation of modifications in clinical practice and patient outcomes after implementation of the protocol also acts as a key positive reinforcement for clinicians.

Our study has several limitations. Its observational nature and the absence of a control group prevent us from establishing a causal relationship between the new protocol, improvement in the use of medications, diagnostic test, and outcomes. The two cohorts had similar demographical characteristics, except for age and predominant RSV type. Given that RSV type is not a clear risk factor for more severe disease [34, 35], we consider that RSV type did not affect outcome measures. Younger age is a known risk factor for severity of bronchiolitis; therefore, the results obtained in the second period could be affected by the fact that the patients had a higher median age [10, 23]. However, the difference in median age was only 1 month, and other indicators of severity were similar between periods, leading us to assume that age did not significantly influence the results. In addition, the items used to evaluate severity and outcomes were similar between periods. Other interesting outcome measures that we did not study were re-consultation and re-hospitalization, which could have underestimated hospital LOS and the frequency of treatments and tests. Inclusion of only RSV-positive cases to minimize the effect of the causative virus on the clinical characteristics of bronchiolitis can partially limit the generalizability of the results, although they are valid for more than 70–80% of cases of bronchiolitis [1, 36].

Similar studies aiming to evaluate the suitability of clinical practice according to guidelines performed in the setting of emergency departments [8, 18], PICU [19, 37], and primary care centers [38] revealed expected differences with respect to disease severity in each setting. However, they also revealed variations in clinical practice between and within countries [16]. One of the strengths of the present study is the population included, which made it possible to study the application of the protocol in the pediatric ward by excluding mild cases discharged from the emergency department and those severe cases transferred to the PICU from the emergency unit or from a lower level of care hospital. Our study analyzes the epidemiology, management, and outcome of hospitalized bronchiolitis in one of the largest pediatric hospitalization wards in Spain. To our knowledge, this is the first study in Spain to evaluate the application of the 2014 and 2015 bronchiolitis guidelines in hospitalized bronchiolitis patients' outside the PICU.

5 Conclusion

The widespread promulgation and application of 2015 HBP in clinics led to a decrease in the use of pharmacological treatments and tests. Evidence that changes in clinical practice are not accompanied by poorer outcomes is essential if we are to convince clinicians that supportive treatment is the only indicated and effective measure. However, further efforts are required to maintain and improve current clinical

practice, especially in the case of corticosteroids, salbutamol, and blood tests.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s40272-021-00488-6>.

Declarations

Funding This work was partially supported by national R + D + I Plan 2008–2011 and by the Carlos III Health Institute, Subdirectorate-General of Networks and Cooperative Research Centers, Spanish Ministry of Economy and Competitiveness, and Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI RD16/0016/0003). It was also supported by the Health Research Fund, Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Grants FIS PI14/01838 and PI18/00685), and by the European Regional Development Fund (ERDF).

Conflict of interest All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial interest or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

Ethics approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the local institutional research committee and with the 1964 Declaration of Helsinki and its subsequent amendments or comparable ethical standards. The study was approved by the Vall d'Hebron Hospital Clinical Research Ethics Committee [PR(AG)78/2014].

Consent to participate Informed consent was waived by the Hospital Clinical Research Ethics Committee because of the retrospective nature of the study and because all the procedures were performed as part of routine care.

Consent for publication Not applicable.

Availability of data and material The datasets generated and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Code availability Not applicable.

Author contributions All authors contributed to the study conception and design and to interpretation of data. Material was prepared and data collected by JV, EL, LM, and IB. The microbiological analysis was performed by AA and CA. Data were analyzed by PP-T and JÁR-P. The first draft of the manuscript was written by JV, EL, and PP-T, and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final version of the manuscript.

References

- Muñoz-Quiles C, López-Lacort M, Úbeda-Sansano I, Alemán-Sánchez S, Pérez-Vilar S, Paig-Barberà J, et al. Population-based analysis of bronchiolitis epidemiology in Valencia. *Spain Pediatr Infect Dis J*. 2016;35:275–80. <https://doi.org/10.1016/j.annpedi.2016.10.002>.
- Ramos-Fernández JM, Pedrero-Segura E, Gutiérrez-Bedmar M, Delgado-Martín B, Cordon-Martínez AM, Moreno-Pérez D, et al. Epidemiology of patients hospitalised due to bronchiolitis in the south of Europe: analysis of the epidemics, 2010–2015. An

- Pediatr.* 2017;87:260–8. <https://doi.org/10.1016/j.ampedi.2016.10.002>.
3. Calvo C, García-García ML, Pozo F, Paula G, Molinero M, Calderon A, et al. Respiratory syncytial virus coinfections with rhinovirus and human bocavirus in hospitalized children. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94:e1788. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001788>.
 4. Gimferrer L, Vila J, Piñana M, Andrés C, Rodrigo-Pendás JA, Peremiquel-Trillas P, et al. Virological surveillance of human respiratory syncytial virus A and B at a tertiary hospital in Catalonia (Spain) during five consecutive seasons (2013–2018). *Future Microbiol.* 2019;14:373–81. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0261>.
 5. Li Y, Reeves RM, Wang X, Bassat Q, Brooks WA, Cohen C, et al. Global patterns in monthly activity of influenza virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and metapneumovirus: a systematic analysis. *Lancet Glob Health.* 2019;7:e1031–45. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30264-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30264-5).
 6. Ciarlito C, Vittucci AC, Antilici L, Concato C, Di Camillo C, Zangari P, et al. Respiratory Syncytial Virus A and B: three bronchiolitis seasons in a third level hospital in Italy. *Ital J Pediatr.* 2019;45:115. <https://doi.org/10.1186/s13052-019-0704-0>.
 7. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, Simoes EAF, Madhi SA, Gessner BD, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. *Lancet.* 2017;390:946–58. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30938-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30938-8).
 8. Schuh S, Bahl FE, Dalziel SR, Freedman SB, Macias CG, Stephens D, et al. Practice variation in acute bronchiolitis: a pediatric emergency research networks study. *Pediatrics.* 2017;140:e20170842. <https://doi.org/10.1542/peds.2017-0842>.
 9. Perlstein PH, Kotagal UR, Schoettler PJ, Atherton HD, Farrell MK, Gerhardt WE, et al. Sustaining the implementation of an evidence-based guideline for bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2000;154:1001–7. <https://doi.org/10.1001/archpedi.154.10.1001>.
 10. Florin TA, Plint AC, Zorc JJ. Viral bronchiolitis. *Lancet.* 2017;389:211–24. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30951-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30951-5).
 11. Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Baley JE, Gadomski AM, et al. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics.* 2014;134:e1474–502. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-2742>.
 12. Cornfield DN. Bronchiolitis: doing less and still getting better. *Pediatrics.* 2014;133:e213–4. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-3250>.
 13. Zhang L, Mendoza-Sassi RA, Klassen TP, Wainwright C. Nebulized hypertonic saline for acute bronchiolitis: a systematic review. *Pediatrics.* 2015;136:687–701. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-1914>.
 14. Brooks CG, Harrison WN, Ralston SL. Association between hypertonic saline and hospital length of stay in acute viral bronchiolitis: a reanalysis of 2 meta-analyses. *JAMA Pediatr.* 2016;170:577–84. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2016.0079>.
 15. National Institute for Health and Clinical Excellence. Bronchiolitis in children : diagnosis and management. In: NICE guidelines. 2015. <https://www.nice.org.uk/guidance/ng9>. Accessed Jan 21.
 16. Korppi M, Mecklin M, Heikkilä P. Review shows substantial variations in the use of medication for infant bronchiolitis between and within countries. *Acta Paediatr.* 2019;108:1016–22. <https://doi.org/10.1111/apa.14713>.
 17. Lora Espinosa DA, Díaz Vázquez CA, Morell Bernabé JJ, Montón Álvarez JL, Torregrosa Bertet MaJ, Praena Crespo M, et al. Management of acute bronchiolitis in emergency wards in Spain: variability and appropriateness analysis (aBREVIADo Project). *Eur J Pediatr.* 2012;171:1109–19. <https://doi.org/10.1007/s00431-012-1683-y>.
 18. Jiménez García R, Andina Martínez D, Palomo Guerra B, Escalada Pellitero S, de la Torre EM. Impact of a new acute bronchiolitis protocol on clinical practice. *Anal Pediatr.* 2019;90:79–85. <https://doi.org/10.1016/j.ampedi.2018.02.017>.
 19. Flores-González JC, Mayordomo-Colunga J, Jordan I, Miras-Veiga A, Montero-Valladares C, Oltmedilla-Jodar M, et al. Prospective multicentre study on the epidemiology and current therapeutic management of severe bronchiolitis in Spain. *Biomed Res Int.* 2017;2017:2565397. <https://doi.org/10.1155/2017/2565397>.
 20. Balaguer M, Alejandre C, Vila D, Esteban E, Carrasco JL, Cambra FJ, et al. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu: BROSJOD Score, validation and usefulness. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52:533–9. <https://doi.org/10.1002/ppul.23546>.
 21. Bonett DG, Price RM. Statistical inference for a linear function of medians: confidence intervals, hypothesis testing, and sample size requirements. *Psychol Methods.* 2002;7:370–83. <https://doi.org/10.1037/1082-989x.7.3.370>.
 22. Schroeder AR, Mansbach JM. Recent evidence on the management of bronchiolitis. *Curr Opin Pediatr.* 2014;26:328–33. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000090>.
 23. Midulla F, Nenna R, Scagnolari C, Petrarca L, Frassanito A, Viscido A, et al. How respiratory syncytial virus genotypes influence the clinical course in infants hospitalized for bronchiolitis. *J Infect Dis.* 2019;219:526–34. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy496>.
 24. Hall CB, Weinberg GA, Blumkin AK, Edwards KM, Staat MA, Schultz AF, et al. Respiratory syncytial virus-associated hospitalizations among children less than 24 months of age. *Pediatrics.* 2013;132:e341–8. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-0303>.
 25. Barr R, Carande EJ, Pollard AJ, Drysdale SB. Change in viral bronchiolitis management in hospitals in the UK after the publication of NICE guideline. *J Clin Virol.* 2018;105:84–7. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2018.06.011>.
 26. Parikh K, Hall M, Teach SJ. Bronchiolitis management before and after the AAP guidelines. *Pediatrics.* 2014;133:e1–7. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-2005>.
 27. De Brasi D, Pannuti F, Antonelli F, De Seta F, Siani P, De Seta L. Therapeutic approach to bronchiolitis: why pediatricians continue to overprescribe drugs? *Ital J Pediatr.* 2010;36:67. <https://doi.org/10.1186/1824-7288-36-67>.
 28. Breakell R, Thorndyke B, Clennett J, Harkensee C. Reducing unnecessary chest X-rays, antibiotics and bronchodilators through implementation of the NICE bronchiolitis guideline. *Eur J Pediatr.* 2017;177:47–51. <https://doi.org/10.1007/s00431-017-3034-5>.
 29. Titus MO, Wright SW. Prevalence of serious bacterial infections in febrile infants with respiratory syncytial virus infection. *Pediatrics.* 2003;112:282–4. <https://doi.org/10.1542/peds.112.2.282>.
 30. Wrotek A, Czajkowska M, Jackowska T. Bacteremia in children hospitalized due to respiratory syncytial virus infection. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1271:21–8. https://doi.org/10.1007/5584_2020_500.
 31. Hervás D, Reina J, Yañez A, Del Valle JM, Figuerola J, Hervás JA. Epidemiology of hospitalization for acute bronchiolitis in children: differences between RSV and non-RSV bronchiolitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:1975–81. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1529-y>.
 32. Lin J, Zhang Y, Xiong L, Liu S, Gong C, Dai J. High-flow nasal cannula therapy for children with bronchiolitis: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child.* 2019. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2018-315846>.
 33. Sprecher E, Chi G, Ozonoff A, Cox J, Patel N, Conroy K. Use of social psychology to improve adherence to national bronchiolitis guidelines. *Pediatrics.* 2019;143:e20174156. <https://doi.org/10.1542/peds.2017-4156>.

34. Laham FR, Mansbach JM, Piedra PA, Hasegawa K, Sullivan AF, Espinola JA, et al. Clinical profiles of respiratory syncytial virus subtypes A and B among children hospitalized with bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36:808–10. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001596>.
35. Saravanos GL, Ramos I, Britton PN, Wood NJ. Respiratory syncytial virus subtype circulation and associated disease severity at an Australian paediatric referral hospital, 2014–2018. *J Paediatr Child Health*. 2021;57:1190–5. <https://doi.org/10.1111/jpc.15419>.
36. Miller EK, Gebretsadik T, Carroll KN, Dupont WD, Mohamed YA, Morin L-L, et al. Viral etiologies of infant bronchiolitis, croup and upper respiratory illness during 4 consecutive years. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:950–5. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>.
37. Mecklin M, Heikkilä P, Korppi M. The change in management of bronchiolitis in the intensive care unit between 2000 and 2015. *Eur J Pediatr*. 2018;177:1131–7. <https://doi.org/10.1007/s00431-018-3156-4>.
38. Carande EJ, Cheung CR, Pollard AJ, Drysdale SB. Change in viral bronchiolitis management in primary care in the UK after the publication of NICE guideline. *Thorax*. 2018;73:674–6. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2017-211180>.

Authors and Affiliations

Jorgina Vila^{1,2} · Esther Lera^{2,3} · Paula Peremiquel-Trillas^{4,5} · Laia Martínez⁶ · Irene Barceló⁶ · Cristina Andrés⁷ · José Ángel Rodrigo-Pendás⁴ · Andrés Antón⁷ · Carlos Rodrigo^{2,8,9}

¹ Pediatric Hospitalization Unit, Department of Pediatrics, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain

² Department of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, Preventive Medicine and Public Health, Faculty of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193 Barcelona, Spain

³ Pediatric Emergency Unit, Department of Pediatrics, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain

⁴ Preventive Medicine and Epidemiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain

⁵ Research Unit Infections and Cancer, Institut Català d'Oncologia, Avinguda de la Gran Via de l'Hospitalet, 199-203, L'Hospitalet de Llobregat, 08908 Barcelona, Spain

⁶ Department of Pediatrics, Hospital, Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain

⁷ Respiratory Viruses Unit, Virology Section, Microbiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain

⁸ Department of Pediatrics, Hospital, Universitari Germans Trias i Pujol, Carretera de Canyet, s/n, Badalona, 08916 Barcelona, Spain

⁹ Germans Trias i Pujol Research Institute, Carretera de Can Ruti, Camí de les Escoles, s/n, Badalona, 08916 Barcelona, Spain

Management of hospitalized respiratory syncytial virus bronchiolitis in the pediatric ward in Spain: assessing the impact of a new clinical practice protocol

Pediatric Drugs

Authors: Jorgina Vila, Esther Lera, Paula Peremiquel-Trillas, Laia Martínez, Irene Barceló, Cristina Andrés, José Ángel Rodrigo-Pendás, Andrés Antón, Carlos Rodrigo

Corresponding Author: Jorgina Vila. Pediatric Hospitalization Unit. Department of Pediatrics. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain. E-mail: jorvila@vhebron.net; Telephone: 0034934893068

Online Resource 1. 2010 HBP and 2015 HBP. Differences between the protocols are specified in the table

Item	Description		
Severity assessment	BROSJOD scale (Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu) ¹		
Additional tests	<p>Blood test and blood culture: if bacterial infection is suspected</p> <p>Urine dipstick and culture: bronchiolitis and fever in infants aged ≤ 3 months</p> <p>Blood gas test: severe bronchiolitis</p> <p>Chest X-ray: to rule out other etiologies, atypical symptoms, severe bronchiolitis, and poor clinical course</p> <p>RSV study in respiratory samples before hospitalization for isolation. RSV study was also indicated in the 2015 HBP for immunocompromised children who were candidates for antiviral treatment</p>		
Monitoring	<p>Pulse oximetry: the 2010 HBP does not specify whether this should be continuous or intermittent, whereas in the 2015 HBP, pulse oximetry is indicated as an initial assessment and continuous pulse oximetry is only indicated in severe bronchiolitis.</p> <p>Apnea monitor: <1 month-old and/or if apnea</p>		
Hospital admission criteria	Mild disease in an infant ≤ 6 weeks old and/or risk of severe bronchiolitis, moderate/severe bronchiolitis, hypoxemia (pulse oximetry $< 92\%$), apnea, dehydration, feeding problems, or altered mental status		
PICU admission criteria	Severe respiratory distress, pulse oximetry $< 90\%$ with $FiO_2 > 0.5$, apnea, or respiratory acidosis despite the treatment and respiratory support received in the emergency department and/or in the hospital ward (pH < 7.2 and/or $pCO_2 > 60$ mmHg)		
Hydration	<p>Fractionate meals: The 2010 HBP recommends this approach in mild bronchiolitis, while the 2015 HBP recommends fractionating meals or enteral feeding through a nasogastric tube only when hydration is not achieved through oral feeding</p> <p>Intravenous hydration: The 2010 HBP recommends this approach in moderate/severe bronchiolitis, while the 2015 HBP recommends it only in severe bronchiolitis.</p>		
Respiratory support	<p>Nasal cannula or Venturi mask: when oxygen saturation $< 92\%$</p> <p>HFNC²: when BROSJOD > 8 points, respiratory acidosis (pH < 7.2 and/or $pCO_2 > 65$ mmHg), apnea, or oxygen saturation $< 90\%$ with $FiO_2 > 0.5$</p> <p>NIMV: when hypoxemia and/or hypercapnia despite previous respiratory support and medical treatment; apnea</p> <p>IMV: when respiratory failure despite NIMV; cardiac or respiratory arrest</p>		
Medical treatment	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center; width: 50%;">2010 HBP</td> <td style="text-align: center; width: 50%;">2015 HBP</td> </tr> </table>	2010 HBP	2015 HBP
2010 HBP	2015 HBP		

Salbutamol: mild disease with positive bronchodilation test result	Salbutamol, epinephrine, 3HS: only in severe bronchiolitis (BROSJOD)
Epinephrine: hospitalized bronchiolitis if bronchodilation test with salbutamol is negative	Selection according to chest auscultation (salbutamol if wheezing)
3HS: together with epinephrine or salbutamol in hospitalized patients	
Corticosteroids: not indicated except in cases of bronchopulmonary dysplasia or chronic pulmonary disease	Corticosteroids: not indicated in any situation
Antibacterial medications: when bacterial infection is suspected or confirmed	

RSV: respiratory syncytial virus; HBP: Hospital Bronchiolitis Protocol; PICU: Pediatric Intensive Care Unit; FiO₂: fraction of inspired oxygen; pCO₂: partial pressure of carbon dioxide; HFNC: high-flow nasal cannula; NIMV: non-invasive mechanical ventilation. IMV: invasive mechanical ventilation. 3HS: 3% hypertonic saline.

¹ Balaguer M, Alejandre C, Vila D, Esteban E, Carrasco JL, Cambra FJ, et al. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu: BROSJOD Score, validation and usefulness. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52:533–539. <https://doi.org/10.1002/ppul.23546>

²HFNC was limited to a few patients admitted to the pediatric ward until mid-2015. Before this, HFNC was only available in the PICU.

Management of hospitalized respiratory syncytial virus bronchiolitis in the pediatric ward in Spain: assessing the impact of a new clinical practice protocol

Pediatric Drugs

Authors: Jorgina Vila, Esther Lera, Paula Peremiquel-Trillas, Laia Martínez, Irene Barceló, Cristina Andrés, José Ángel Rodrigo-

Pendás, Andrés Antón, Carlos Rodrigo

Corresponding Author: Jorgina Vila, Pediatric Hospitalization Unit, Department of Pediatrics, Hospital Universitari Vall

d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain, E-mail: jorvila@vhebron.net; Telephone: 0034934893068

Online Resource 2.

Clinical and epidemiological characteristics before and after the 2015 HBP (children ≤ 12 month)

		Before 2015 HBP (2014-2015 and 2015-2016)	After 2015 HBP (2016-2017 and 2017-2018)
		Number of patients (%)¹	Number of patients (%)¹
Total		230	263
RSV-A		127 (55.22%)	92 (34.98%)
RSV-B		103 (44.78%)	171 (65.02%)
Male		124 (53.91%)	143 (54.37%)
Age (days) ²		70 (36 - 144)	92 (46 - 194)
Age	< 1 month	41 (17.83%)	31 (11.79%)
	1-3 months	61 (26.52%)	63 (23.95%)
	4-6 months	88 (36.26%)	100 (38.02%)
	7-12 months	40 (17.39%)	69 (26.24%)
Prematurity (< 34 weeks gestation)		11 (4.78%)	21 (7.98%)
Comorbidities		7 (3.04%)	8 (3.04%)
Severity score at admission ³	Mild	96 (41.74%)	104 (39.54%)
	Moderate	126 (54.78%)	147 (55.89%)
	Severe	7 (3.04%)	11 (4.18%)

HBP: Hospital Bronchiolitis Protocol; RSV: respiratory syncytial virus.

¹Column percentage.²Median (interquartile range).³According to BROSJOD score (Balaguer M, Alejandre C, Vila D, Esteban E, Carrasco JL, Cambra FJ, et al. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu: BROSJOD Score, validation and usefulness. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52(4):533–539); numbers do not add up as two values were missing

Use of medications and tests and outcomes before and after the 2015 HBP (children ≤ 12 month)

	Before 2015 HBP (2014-2015 and 2015-2016) Number of patients (%)	After 2015 HBP (2016-2017 and 2017-2018) Number of patients (%)	Percentage change ¹ (95%CI)	p-value ²
Total	230	263		
Salbutamol	126 (54.78%)	64 (24.33%)	↓ 55.58% (↓34.83% - ↓56.66%)	< 0.001
Epinephrine	152 (66.09%)	4 (1.52%)	↓ 97.70% (↓94.89% - ↓99.13%)	< 0.001
3% hypertonic saline	169 (73.48%)	21 (7.98%)	↓ 89.13% (↓83.50% - ↓92.84%)	< 0.001
Corticosteroids	27 (11.74%)	19 (7.22%)	↓ 38.46% (↑ 7.69% - ↓64.83%)	0.086
Antibiotics	75 (32.61%)	52 (19.77%)	↓ 39.37% (↓17.64% - ↓55.36%)	0.001
Chest X-ray	96 (41.74%)	70 (26.62%)	↓ 36.23% (↓17.94% - ↓50.45%)	< 0.001
Blood tests	98 (42.61%)	105 (39.92%)	↓ 6.30% (↑15.70% - ↓24.12%)	0.546
Hospital length of stay (days)	4 (3-7) ³	4 (3-6) ³	0 (-0.48 - 0.48) ⁴	1
Hospital length of stay				
≤ 3 days	76 (33.04%)	114 (43.35%)	↑ 31.18% (↑ 4.21% - ↑65.11%)	0.019
4-7 days	116 (50.43%)	114 (43.35%)	↓ 14.06% (↑3.77% - ↓28.82%)	0.116
≥ 8 days	38 (16.52%)	35 (13.31%)	↓ 19.45% (↑23.05% - ↓47.27%)	0.316
Use of respiratory support	179 (77.83%)	191 (72.62%)	↓ 6.68% (↑ 3.26% - ↓15.68%)	0.183
Type of maximum respiratory support required ⁵				
Nasal cannula	143 (79.89%)	108 (56.54%)	↓ 29.22% (↓18.22% - ↓38.74%)	< 0.001
HFNC	36 (20.11%)	83 (43.46%)	↑ 116.07% (↑54.75% - ↑201.69%)	< 0.001
Duration of respiratory support (days)	3 (2-5) ³	3 (2-5) ³	0 (-0.69 - 0.69) ⁴	1
> 7 days ⁶	11 (6.15%)	13 (6.81%)	↑ 11.93% (↓48.52% - ↑143.31%)	0.776

HBP: Hospital Bronchiolitis Protocol; 95%CI: 95% confidence interval, HFNC: high-flow nasal cannula; NIMV: non-invasive mechanical ventilation.

¹ The arrows indicate an increase (↑) or decrease (↓) in the percentage in the variable during the second period.

² The p-value corresponds to the relative risk (see the *Statistical analysis* section) or the difference in medians, depending on the case.

³ Median (interquartile range).

⁴ Difference in medians (95%CI).

⁵ Percentages calculated based on the total number of patients receiving respiratory support.

⁶ There are two missing values in the second period.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Las IRVB virales son una de las principales causas de morbilidad y hospitalización en la población pediátrica, principalmente en menores de 5 años (7). Estas infecciones tienen un fuerte impacto a nivel mundial, pero cabe destacar que las tasas de mortalidad están relacionadas con el nivel de ingresos y desarrollo del país y en consecuencia de los recursos sanitarios de los que dispone cada país (3).

Dentro de las IRVB pediátricas, la bronquiolitis y su principal virus causante, el VRS, han sido objeto de muchos estudios científicos, al tratarse la bronquiolitis por VRS de la principal causa de hospitalización en menores de 2 años, que trasciende en un fuerte impacto económico y de recursos para el sistema sanitario y social para las familias (14). Aunque se han identificado factores del huésped asociados a una mayor gravedad, la bronquiolitis por VRS afecta en más del 80% de los casos a pacientes previamente sanos (30). Pero a pesar de este impacto, tan incisivo, intenso y en un corto periodo de tiempo, y que afecta a los niños más pequeños, no se dispone hasta la fecha de un fármaco preventivo que se pueda ofrecer a toda la población susceptible o un antiviral eficaz para evitar o tratar la enfermedad, o como mínimo para prevenir las complicaciones y secuelas a largo plazo como son las sibilancias recurrentes; aunque recientemente, se están haciendo importantes avances en este campo (28,142).

La NAC de etiología viral es otra de las IRVB de creciente interés en los últimos años debido a dos factores. En primer lugar, la disminución de la incidencia de NAC bacterianas debido a la elevada cobertura vacunal de *S. pneumoniae* y *H. influenzae* tipo b ha hecho que los virus respiratorios hayan ganado relevancia como causantes de esta enfermedad. Y, en segundo lugar, la mayor utilización de las técnicas moleculares para el diagnóstico microbiológico ha supuesto ganar capacidad para la detección de los virus respiratorios respecto a las técnicas clásicas, y así se ha podido atribuir a los virus respiratorios un gran porcentaje de NAC (12).

Finalmente, la implicación de los virus respiratorios como factores que pueden facilitar la aparición de sibilancias recurrentes en la primera infancia y su papel

en las sibilancias agudas y agudizaciones asmáticas ha motivado su investigación en los últimos años, centrada sobre todo en el VRS y el RV (63,64).

Previo a la pandemia de SARS-CoV-2, existía ya un interés dentro de la comunidad científica en la investigación de los virus respiratorios, especialmente para los virus de la gripe y el VRS, aunque a raíz de la pandemia esta investigación ha crecido exponencialmente. El SARS-CoV-2 y la enfermedad asociada (*Coronavirus disease 2019* o COVID-19) han obligado a invertir recursos para profundizar en la fisiopatología de la enfermedad, para conocer sus características virales, desvelar sus mecanismos de patogenidad, y describir su diversidad genética a causa de continuas mutaciones resultado de su evolución natural. Con parte de esta información, sumada al conocimiento previo en virus taxonómicamente muy próximos como el SARS-CoV-1 y el MERS-CoV, se ha podido avanzar rápidamente en el desarrollo de vacunas y fármacos antivirales, que han demostrado ser de gran utilidad en nuestra respuesta frente a la pandemia (143). Seguir en esta línea para todos los otros virus respiratorios, en particular aquellos asociados a una mayor morbimortalidad, debería ser una prioridad.

La presente tesis doctoral se inició mucho antes de que el mundo empezara a hablar del SARS-CoV-2. Con los resultados obtenidos hemos sido capaces de describir la estacionalidad y clínica de las IRVB virales en población pediátrica hasta 2020. Pero, además hemos podido observar los efectos de la circulación de un nuevo virus, que produce enfermedad de mayor gravedad en adultos que en niños y que ha obligado a tomar una serie de medidas no farmacológicas para evitar la transmisión comunitaria. Ya sea por estas medidas no farmacológicas o incluso por fenómenos de interferencia viral, hemos podido ver como se ha alterado el patrón de circulación habitual de los virus respiratorios, también de los principales virus causantes de las epidemias pediátricas anuales tales como el VRS, los virus de la gripe o el hMPV.

En el primer trabajo publicado de esta tesis doctoral, se analizaron más de 4.000 episodios de hospitalización a partir de los datos estructurados extraídos de la historia clínica electrónica del paciente pediátrico hospitalizado por IRVB. Se constató, como ya se ha comentado previamente, la importancia en nuestro medio de la bronquiolitis por VRS dentro de la morbimortalidad por IRVB en pediatría,

mayoritariamente en menores de 12 meses. La epidemia de VRS es de hecho el gran reto al que los pediatras, tanto hospitalarios como de atención primaria, nos tenemos que enfrentar todos los años. Con los otros dos trabajos publicados, profundizamos en el estudio de la bronquiolitis por VRS. Por un lado, en el segundo trabajo se analizó si el subgrupo genético del VRS condiciona la gravedad de la enfermedad, comparando la evolución clínica entre las bronquiolitis por VRS-A y aquellas producidas por VRS-B, sabiendo que entre ellos existen diferencias genéticas y antigénicas, y probablemente también en la virulencia. Finalmente, en el tercer trabajo publicado se evaluó la prescripción de fármacos y la realización de exploraciones complementarias en las bronquiolitis por VRS hospitalizadas tras la publicación de las guías de práctica clínica entre 2014 y 2015. La demostración de que los fármacos utilizados hasta el momento para el tratamiento de la bronquiolitis, así como la utilización de algunas exploraciones complementarias, no mejoran el pronóstico de la enfermedad ha de permitir disminuir la iatrogenia a los pacientes y el gasto sanitario. Cabe destacar que los tres estudios se realizaron en población hospitalizada, permitiendo analizar la demografía, la virología y la clínica en aquellos casos más graves, sin tenerse en cuenta los casos atendidos en atención primaria y que no han requerido ingreso hospitalario. Es por esto que los resultados no reflejan la morbilidad global en la población, una carga de enfermedad no menos despreciable a nivel de atención primaria (11).

Según los resultados de nuestro estudio, el sexo, la edad y las enfermedades de base son factores del huésped que aumentan el riesgo o la gravedad de las IRVB. En relación al sexo, la proporción de varones fue levemente superior al de mujeres, oscilando entre el 52 y el 57%, siendo también 1,4 veces mayor su probabilidad de ingresar en UCI por IRVB en comparación con el sexo femenino. Estos hallazgos son comunes en la mayoría de trabajos sobre IRVB, incluidos algunos de los publicados por nuestro grupo (11,94,144,145). En algunos estudios se ha apuntado que factores hormonales y genéticos asociados al sexo influirían en la respuesta inmunitaria del huésped aumentando así la morbimortalidad de las IRVB en el sexo masculino (146,147). Estudios *in vitro* han demostrado que la activación de la inmunidad innata tras una infección por un virus respiratorio, medida a partir de la respuesta de

interferón, es menor en varones que en mujeres lo que se ha asociado a una mayor gravedad de las IRVB (148).

La edad también se ha identificado como un factor del huésped que condiciona la gravedad de las IRVB. Algunos estudios han demostrado que el aumento de un mes en la edad de los pacientes afectados de una IRVB disminuye el riesgo de ingreso en UCI y la duración de la estancia hospitalaria (28,149). En nuestro trabajo de la carga de enfermedad, que incluyó pacientes hasta los 15 años, un tercio de los casos tenía menos de un año de edad y solo el 12% eran mayores de 5 años, siendo los menores de un año los que tenían mayor probabilidad de ingresar en UCI. En la bronquiolitis por VRS, donde se incluyó población menor de 2 años, aproximadamente el 90% tenía menos de 12 meses de edad. Igual que en el sexo masculino, los factores inmunitarios son críticos para la respuesta de los lactantes a las infecciones respiratorias virales. Factores de la inmunidad innata y de la adaptativa, como la respuesta a interferón o la producción de células de memoria, están disminuidos en lactantes. Esto, sumado a la ausencia de exposición previa al virus y a la anatomía propia de la vía respiratoria les hace más susceptibles a las infecciones respiratorias virales (150).

La presencia de enfermedades de base y la prematuridad condicionan la evolución de las IRVB, aumentando la gravedad de éstas y la probabilidad de hospitalización e ingreso en UCI (149). En el primer trabajo, en el que no se hizo distinción de la prematuridad entre las comorbilidades, aproximadamente el 10% de los pacientes padecía como mínimo una comorbilidad y estas aumentaron más de tres veces la probabilidad de ingresar en UCI. En los dos estudios publicados, centrados en la bronquiolitis, aproximadamente el 8% fueron prematuros y el 4% tenía alguna enfermedad crónica. La proporción de enfermedades crónicas fue mayor en el primer estudio ya que el rango de edades de la población incluida fue mayor que en los otros dos, aumentando así las probabilidades de poder reconocer o desarrollar una enfermedad crónica. Con estos resultados es importante destacar que hasta un 90% de los pacientes incluidos en estos estudios eran previamente sanos y sin enfermedades de base. Este hallazgo, que es común en estudios similares, pone de manifiesto que toda la población es susceptible de padecer una IRVB viral, unas infecciones potencialmente graves que pueden requerir hospitalización (28,151). Algunos de los

factores asociados al huésped se pueden reconocer, y otros muy probablemente quedarán como desconocidos, ya que en algunos casos la capacidad de respuesta frente al virus tiene una base genética.

En relación a los virus que somos capaces de detectar mediante el uso de técnicas moleculares, una característica que se describe en nuestro trabajo es la estacionalidad en la circulación de cada uno de ellos. Esta estacionalidad hace que en nuestro medio la circulación de los virus con mayor morbilidad y consumo de recursos sanitarios se concentre durante los meses de otoño e invierno. Sin embargo, debemos ser conscientes que estamos detectando virus respiratorios en pacientes sintomáticos, y siempre nos queda la pregunta de cuál es su circulación real ya que no hay estudios comunitarios basados en muestras de población asintomática. Es probable que de haber realizado este estudio en población asintomática o sintomática leve en el contexto de atención primaria dispondríamos de un mayor número de casos, y podríamos describir mejor su estacionalidad. Según los resultados del primer trabajo, los patrones de circulación mensual de virus como el VRS, los virus de la gripe, hMPV, hPIV 3-4, EV y hBoV fueron similares a los patrones previamente descritos en España y otros países del hemisferio norte (15,78,94,116,117,144,152). Estos confirman que el VRS tiene el pico de hospitalizaciones durante el mes de diciembre, seguido por los virus de la gripe durante los meses de enero y febrero, y el hMPV durante los meses de marzo y abril. La circulación de RV fue ligeramente diferente a los estudios previos donde el pico de detecciones se producía en febrero-marzo, a diferencia de nuestro estudio donde se concentró en noviembre (109). De la misma manera, la circulación de hAdV no presentó pico en primavera, como si está descrito en otras áreas geográficas donde habitualmente presenta dos picos de incidencia, uno al final de primavera o principios de verano y otro en invierno (153). Estas diferencias respecto a estudios previos para estos dos virus respiratorios se puede explicar por dos motivos. En primer lugar, por la mayor realización de test rápidos para detección de VRS y virus de la gripe durante los meses de invierno y la no realización de estudios adicionales para otros virus respiratorios, que permitirían detectarlos; y, en segundo lugar, por producir estos virus síntomas más leves que no requieran hospitalización. Finalmente, los hCoV y los hPIV 1-2 no presentaron un claro patrón estacional, probablemente por el pequeño

número de casos detectados y por la levedad de los síntomas que hace que estos pacientes no sean hospitalizados (104,105,117).

A parte de la estacionalidad, un resultado interesante de la presente tesis doctoral es la diferencia en el porcentaje de casos positivos de cada virus respiratorio entre temporadas. Esta diferencia, se puede explicar por la interacción de factores ambientales, factores de susceptibilidad del huésped y factores virales, además de la utilización de diferentes técnicas de laboratorio a lo largo del estudio con diferente sensibilidad para detectar cada virus. Los factores ambientales como la temperatura, la humedad o la polución ambiental afectan la viabilidad, y en consecuencia a la capacidad de transmisión del virus, y a la respuesta inmunitaria local de la vía respiratoria del huésped (16). Las interacciones entre la población susceptible a la infección, la higiene, la exposición previa al virus o a las vacunas, son factores del huésped que determinan la susceptibilidad, lo que también condiciona la transmisibilidad en la comunidad y con ello la incidencia y la gravedad de la infección (16,154). Finalmente, la coinfección de más de un virus respiratorio en el huésped o la aparición de un nuevo virus o una nueva variante de un virus previamente existente, son factores virales que pueden condicionar la patogenia del virus, y en consecuencia la transmisibilidad y la gravedad de los síntomas (92,124).

Como se puede ver en los resultados del primer trabajo, la interacción de estos factores ambientales, del huésped y del virus fue especialmente importante durante la temporada 2020-2021 cuando la aparición de un nuevo virus, el SARS-CoV-2, obligó a adoptar medidas de distanciamiento social, higiene y restricción en la movilidad de la población. Estas medidas no farmacológicas, sumadas a la interacción entre este nuevo virus y los previamente existentes, han condicionado hasta ahora la circulación de virus estacionales como el VRS, los virus de la gripe o el hMPV. En los periodos esperados durante la temporada 2020-2021 no se detectaron casos o muy pocos de VRS, gripe y hMPV, sin que se vieran los característicos picos epidémicos invernales (19,20,155). Pero no todos los virus respiratorios se vieron afectados por igual. La ausencia de envuelta lipídica en la estructura de virus como el RV o el hAdV, que les confiere una especial resistencia a las medidas no farmacológicas para prevenir la transmisión, hizo que estos sí circularan durante esa temporada 2020-2021 (156,157).

Cabe destacar que además de lo previamente mencionado, una vez controlada la pandemia y coincidiendo con la relajación de algunas medidas no farmacológicas, se restableció la circulación de los virus respiratorios estacionales, pero con un patrón de circulación diferente al habitual, sobre todo de VRS y hMPV. En el caso del VRS se detectó un pico tardío de circulación entre los meses de abril y julio de 2021 y un pico estacional durante la temporada 2021-2022 más precoz que habitualmente (138). En cuanto al hMPV, durante el año 2021 se detectaron dos picos de circulación fuera de los meses habituales, el primero a mediados-finales de primavera y el segundo en los meses de otoño e invierno, al mismo tiempo que el VRS, con el que comparte características estructurales y genéticas y estructurales (158). Los resultados del primer estudio tan solo han permitido registrar la ausencia de pico epidémico habitual hasta diciembre de 2020, pero al terminarse la recogida de datos a finales del 2020 no se ha podido objetivar este cambio en 2021 del patrón de circulación habitual de los virus respiratorios.

De entre los virus estudiados, el VRS y el RV fueron los dos más prevalentes. La mayoría de estudios coinciden con estos resultados, aunque la prevalencia de un virus sobre el otro es variable en los diferentes trabajos y depende de la edad, los síntomas de los pacientes incluidos y del nivel asistencial donde se ha realizado el estudio, es decir de la gravedad de la infección (71,159). Haddadin et al. reportaron que, en menores de un año, el VRS era más frecuente en menores de 6 meses atendidos en urgencias u hospitalizados, un hecho que se explica por la potencial gravedad de la bronquiolitis por VRS en menores de 6 meses. El RV en cambio, fue más frecuente en mayores de 6 meses atendidos en atención primaria lo que muchas veces se justifica por los síntomas leves producidos por este virus, aunque tal y como podemos ver en nuestro estudio el RV fue el segundo virus más prevalente en el paciente pediátrico hospitalizado (149). En referencia a la prevalencia del resto de virus respiratorios, los resultados difieren entre las diferentes publicaciones y probablemente se deba a diferencias metodológicas entre los trabajos (94,160,161). En nuestro caso, la mayor utilización de técnicas de inmunofluorescencia en los primeros años del estudio y de técnicas de diagnóstico rápido para VRS y virus de la gripe en los picos epidémicos, aparte de haber infravalorado el papel del RV, también habrá condicionado los

resultados de la prevalencia de virus como hMPV, hAdV, por la menor sensibilidad de las técnicas de inmunofluorescencia, y de EV, hPIV 1-4, hBoV o hCoV que no eran detectados con estas técnicas antigénicas. A pesar de esta limitación, según nuestros resultados el hMPV fue el tercer virus más prevalente en el paciente pediátrico hospitalizado, lo que pone de manifiesto el potencial patogénico de este virus en la población pediátrica. Un virus que en algunos estudios se le atribuye una gravedad comparable al VRS o a los virus de la gripe (91,94,160). Finalmente, los virus de la gripe representaron tan solo el 4% de los casos a pesar de ser uno de los virus con mayor morbimortalidad como veremos más adelante.

Las codetecciones virales más frecuentes fueron VRS-RV y RV-hAdV. Ninguno de los tres trabajos fue diseñado específicamente para estudiar el impacto en la clínica de las codetecciones virales ya que este no era un objetivo de la presente tesis doctoral. Estas codetecciones tan solo se recogieron en algunos casos del trabajo sobre carga de enfermedad, lo que hace que los resultados puedan estar sesgados. La utilización de diferentes técnicas de laboratorio a lo largo del período de estudio, con diferente capacidad o sensibilidad para detectar los diferentes virus respiratorios, y no haber estudiado otros virus respiratorios en el caso de resultados positivos para VRS y gripe por técnicas rápidas durante las epidemias anuales, explican que en la mayoría de casos no se pudiera confirmar la presencia de más de un virus en la muestra. Esta es una limitación de los tres estudios ya que algunos trabajos al respecto atribuyen una mayor gravedad a las IRVB con más de un virus en la muestra respiratoria (126,127). Aun así, como se ha comentado en la introducción, otros estudios no confirman esta mayor gravedad por lo que existen dudas sobre el verdadero papel de las codetecciones virales en modificar la evolución de las IRVB, especialmente con aquellos virus respiratorios como RV o hBoV que son de larga excreción (128,129). Además, las técnicas de diagnóstico molecular utilizadas en estos estudios no permiten establecer la viabilidad de los virus detectados en las muestras respiratorias y consecuentemente no permiten al clínico establecer el verdadero papel patogénico de cada virus, al poder persistir el material genético semanas o meses después de una infección aguda. A esto hay que sumarle que la edad pediátrica, sobre todo antes de los 2 años de edad, es una etapa donde es frecuente que los niños encadenen

infecciones víricas ante la ausencia de contacto previo con el virus, lo que facilita la codetección del virus agudo añadido a los restos de material genético de una infección vírica pasada.

En cuanto a los síntomas, en general los más frecuentes fueron las sibilancias/agudizaciones asmáticas, pero si analizamos esta información por edades, la bronquiolitis fue la IRVB más frecuente en menores de un año, mientras las sibilancias/agudizaciones asmáticas y NAC fueron más frecuentes en niños entre los 2 y los 4 años. La prevalencia de cada IRVB tiene una estrecha relación con la prevalencia de cada virus según la edad. El 80% de bronquiolitis se diagnosticaron en menores de un año y en el 76% de los menores de 12 meses se aisló VRS en las muestras respiratorias. Además, tener una infección por VRS aumentó significativamente la probabilidad de sufrir una bronquiolitis hasta 3,57 veces comparado con los otros virus respiratorios. Las sibilancias/agudizaciones asmáticas fueron más frecuentes en la población entre 2-4 años, probablemente relacionado con una mayor proporción de RV en esta franja de edad. Según los estudios, el RV es una causa reconocida de sibilancias agudas y agudizaciones asmáticas en niños mayores (63). Esto se confirma en nuestros resultados, al aumentar el RV la probabilidad de sufrir esta IRVB 3,58 veces comparado con los otros virus respiratorios. Otros virus que según nuestros resultados aumentan la probabilidad de sibilancias/agudizaciones asmáticas son el hAdV, el hBoV, los hPIV 1-4 y los EV; aun así, no pudimos demostrar esta relación con el VRS. En algunos estudios se define la bronquiolitis como el primer episodio de IRVB en un lactante menor de un año (23); en nuestro estudio en cambio la definición incluye aquellos pacientes menores de 2 años. Esto puede explicar que, comparado con otros estudios, las sibilancias agudas/agudizaciones asmáticas sean más frecuentes entre los dos y los cuatro años, y no entre los 12-24 meses, y que el VRS no aumente el riesgo de padecer esta IRVB (63). Finalmente, aproximadamente la mitad de los pacientes diagnosticados de NAC en el estudio tenían entre dos y cuatro años y los virus de la gripe fueron los que más aumentaron la probabilidad de padecer NAC. Los virus de la gripe son una causa reconocida de neumonía primaria causada por el propio virus o secundaria por una coinfección bacteriana, más frecuentemente por *S. aureus* o *S.*

pneumoniae, causando una elevada morbimortalidad a nivel mundial, especialmente en menores de 5 y mayores de 70 años (7,162).

A parte de la demografía, la estacionalidad y los síntomas, se estudió la morbimortalidad de cada virus respiratorio. La morbilidad se estudió mediante la duración de la estancia hospitalaria, la necesidad de soporte respiratorio y de ingreso en UCI. Estudios previos sobre la morbimortalidad de estas enfermedades demuestran que los virus con mayor carga de enfermedad son el VRS, los virus de la gripe y el hMPV, especialmente en menores de 1 año (14,73,91). Como se ha mencionado previamente, el RV fue el segundo virus más prevalente en el paciente hospitalizado, aun así, la morbilidad fue menor comparado con estos tres. Esta menor gravedad probablemente se relaciona con una menor respuesta inflamatoria local en la vía respiratoria en las infecciones por RV (163). Nuestros resultados coinciden con la literatura señalando que el VRS y los virus de la gripe son los principales causantes de morbilidad, por la mayor duración de la estancia hospitalaria y la proporción de pacientes que requiere ingreso en UCI y soporte respiratorio (14,73). Otro indicador de la potencial mayor gravedad de estos virus respecto al resto son los dos casos que requirieron oxigenación por membrana extracorpórea que describimos: el primero, una NAC por virus de la gripe A con una coinfección por *S. pneumoniae* en una niña sin enfermedades de base, y la segunda una NAC por VRS en un paciente con secuelas neurológicas secundarias a un tumor cerebral. La mortalidad, muy poco frecuente en nuestro medio, según nuestros resultados se relaciona con el VRS y el virus de la gripe A, todos los casos en pacientes con comorbilidades asociadas. Tal y como se describe en la literatura, la mortalidad debida a estos dos virus en países desarrollados se concentra sobre todo en población con enfermedades crónicas (162,164).

La morbilidad del VRS en la bronquiolitis se estudió en más profundidad en el segundo trabajo publicado, en el que se comparó la gravedad según el subgrupo genético de VRS, A o B. Varios trabajos han comparado la gravedad de la infección entre VRS-A y VRS-B pero pocos se han centrado específicamente en la bronquiolitis. Y aunque los resultados de algunos estudios parecen atribuir mayor gravedad al VRS-A, el escaso número de estudios y las diferencias metodológicas entre ellos no permiten confirmarlo (82–84,87,88). Esta potencial mayor gravedad del VRS-A también parece

confirmarse en las investigaciones realizadas *in vitro* que apuntan que comparado con el VRS-B, el VRS-A tiene una mayor capacidad de replicación y diseminación por la mucosa respiratoria (165). Además, algunos genotipos de VRS-A, comparado con el VRS-B, inducen una respuesta inmunitaria con menor activación de la respuesta de interferón y una mayor expresión de genes de los neutrófilos que se asocia a mayor gravedad clínica (166). Según nuestros resultados, en los que la edad, la distribución por sexos y la proporción de prematuros o niños con enfermedades crónicas fue similar entre VRS-A y VRS-B, las bronquiolitis por VRS-A presentaron peor pronóstico en cuanto a duración de la estancia hospitalaria, el ingreso en UCI y la necesidad de soporte respiratorio. A nivel clínico, los pocos estudios centrados en la bronquiolitis parecen apuntar que el VRS-A se asocia a síntomas más graves, aunque en un estudio la evolución clínica fue similar en ambos subgrupos (82,83,88). Las diferencias metodológicas entre los trabajos, la inmunidad previa o la susceptibilidad de la población afectada y las diferencias en los genotipos circulantes en cada área geográfica pueden explicar los diferentes resultados entre los estudios. Uno de los puntos fuertes de nuestro trabajo es que durante el período de estudio en Cataluña hubo una cocirculación casi exclusiva de los genotipos ON1 de VRS-A y BA9 de VRS-B, lo que facilita la comparación entre ambos subgrupos genéticos al no ser el genotipo un factor de sesgo para estimar la gravedad (78). La identificación de si el subgrupo genético es un factor condicionante de la gravedad ha de permitir a los clínicos anticipar la evolución de los pacientes en función del VRS detectado, y a los gestores sanitarios prever la necesidad de mayores recursos sanitarios al inicio de la epidemia anual según el subgrupo de VRS predominante. Pero además, esta información debería facilitar el desarrollo de tratamientos orientados a prevenir la enfermedad o la gravedad de la misma, más específicamente para aquel VRS asociado a una mayor morbimortalidad.

En relación con el hMPV, estudios previos sugieren que la gravedad en menores de un año es similar a la producida por el VRS o los virus de la gripe, una afirmación que no se cumple en nuestro estudio, donde la gravedad del hMPV fue levemente menor a los otros dos virus (91,94,160). Una posible explicación a esta diferencia es por la menor proporción de pacientes menores de un año infectados por hMPV. Otros

factores pueden ser las diferencias entre los genotipos de hMPV circulantes entre los estudios y la susceptibilidad de la población a la infección debido a la inmunidad adquirida por exposiciones previas al virus, tal como describimos en un trabajo previo realizado por nuestro grupo no incluido en esta tesis doctoral (92).

A parte de los mencionados previamente, en la presente tesis doctoral también se estudió la morbilidad de virus como hBoV, hCoV, hPIV 1-4, hAdV o EV. Según nuestros resultados, en aproximadamente en un tercio de las hospitalizaciones por IRVB alguno de estos virus fue detectado, y en el 11,56% de los casos se pudo demostrar codetección con virus como VRS, gripe, RV o hMPV. La gravedad de la enfermedad de estos virus fue menor que los mencionados previamente. En este punto debemos destacar que la elevada proporción de hBoV y hCoV estacionales que requirieron hospitalización en UCI estaba probablemente relacionada con la codetección con virus de mayor gravedad como el VRS y no tanto por la gravedad en sí de estos virus (104,115).

La carga que suponen las IRVB virales para el sistema sanitario obliga a adaptar los recursos materiales, humanos y espacios disponibles para poder atender la elevada demanda de atención sanitaria de estos pacientes, sobre todo durante los períodos de invierno por las esperadas epidemias anuales de VRS, virus de la gripe y hMPV. Según los resultados del primer estudio, más del 90% de los casos se hospitalizaron entre los meses de octubre a marzo ocupando más el 12,36% del total de camas disponibles para estos pacientes en el hospital, más de un 14% de las camas de plantas de hospitalización convencional y casi el 7% de las camas de UCI. Esta ocupación, si tenemos en cuenta el porcentaje de casos positivos según el mes, se debió fundamentalmente al VRS, los virus de la gripe, el hMPV y el RV. Es interesante ver, como ya se ha descrito previamente en la literatura y se ha comentado en esta discusión, que la carga de cada uno de ellos se distribuye a lo largo de los meses de otoño e invierno (78,92,109,152). Fuera del período epidémico, la ocupación de camas se relacionó fundamentalmente con virus como EV, hPIV 3-4 y hAdV, a parte del RV. Estos porcentajes pueden parecer bajos comparados con la sensación de colapso hospitalario que tenemos los pediatras y gestores sanitarios durante los meses invernales. Hay varios factores que pueden haber condicionado estos porcentajes. En

primer lugar, al haberse realizado el estudio en un hospital de tercer nivel, centro de referencia de pacientes oncohematológicos, trasplantados de órganos sólidos, enfermedades minoritarias, etc., explica que un porcentaje variable de las camas de las plantas de hospitalización convencional de pediatría junto a la sala de observación de urgencias, puedan estar ocupadas por estos pacientes y no por IRVB virales durante los períodos de estudio. En segundo lugar, la ocupación se ha calculado durante las temporadas epidémicas (de octubre a mayo) y la distribución de los ingresos se concentra sobre todo durante el mes de diciembre, siendo los porcentajes menores en los meses de octubre y mayo. Finalmente, la utilización de técnicas de inmunofluorescencia durante los primeros años del estudio, con menor sensibilidad, habrá infravalorado el número de casos hospitalizados con virus confirmado en este primer período de estudio.

La hospitalización de estas enfermedades se asocia a un consumo de recursos económicos nada menospreciable. Según nuestros cálculos, realizados a partir del coste medio de la hospitalización según datos internos del HIVH, el coste total durante todo el período de estudio fue de 16.603.415 € con un coste por episodio de 4.093,54 €. A estas cifras habría que sumarle los costes de la atención primaria y los costes indirectos debidos al absentismo laboral de los padres, las comidas y desplazamientos de los familiares durante la hospitalización, etc. Además, hay que tener en cuenta las consultas y reingresos posteriores debidos a las secuelas a largo plazo de estas infecciones, principalmente las sibilancias recurrentes que pueden aparecer después de una bronquiolitis por VRS (64). Con todo, el coste total es mucho superior al mencionado previamente.

La aplicación de medidas profilácticas para prevenir la infección, así como la adecuación de la práctica clínica a las guías debería permitir disminuir el coste de estas enfermedades. Durante la pandemia de SARS-CoV-2 la aplicación de medidas no farmacológicas como el lavado de manos o la utilización de mascarillas faciales previno la transmisión y contagio del SARS-CoV-2 y de otros virus, como se ha mencionado previamente. Estas medidas son difíciles de aplicar fuera de un estado de pandemia, pero hacer hincapié en un correcto lavado de manos tanto en ámbitos hospitalarios como en guarderías y colegios podría disminuir la transmisibilidad de los virus

respiratorios y en consecuencia la morbilidad de los mismos, especialmente en la población de riesgo (167,168). Aunque estas medidas pueden ser un arma de doble filo ya que al no generarse inmunidad debido a la falta de exposición a los virus, puede aumentar la población susceptible y en consecuencia la incidencia y la gravedad de las epidemias (169). A nivel farmacológico, para prevenir las IRVB y sus complicaciones actualmente disponemos de fármacos comercializados basados en anticuerpos monoclonales para la prevención del VRS, y vacunas y antivirales para la prevención o tratamiento de los virus de la gripe. En Cataluña, estos fármacos actualmente solo se ofrecen a población de riesgo. Desde la pandemia de COVID-19 disponemos también de vacunas dirigidas contra el SARS-CoV-2, indicadas para toda la población mayor de 5 años, independiente de las comorbilidades asociadas. Teniendo en cuenta nuestros resultados, donde el 90% de los pacientes hospitalizados no tenían enfermedades crónicas, ofrecer estas medidas preventivas de gripe y VRS a la población general podría ayudar a disminuir la morbimortalidad, ocupación de camas y el gasto derivado de la asistencia sanitaria de estos pacientes.

En referencia a la gripe, según estudios realizados en Estados Unidos, la vacunación antigripal anual en la población pediátrica podría ayudar a prevenir hasta el 50% de las hospitalizaciones en menores de 8 años (170), pero además, al ser los niños el vector de transmisión a los adultos, la vacunación infantil ayudaría a prevenir la gripe y sus complicaciones en el paciente adulto (171). En este sentido, la OMS y la ECDC recomiendan la vacunación antigripal en población pediátrica entre los 6 y los 59 meses de edad (172,173); en España, el comité asesor de vacunas de la Asociación Española de Pediatría ha introducido como novedades en 2022 la recomendación de vacunar de la gripe a los niños entre los 6 meses y los 5 años, independientemente de los factores de riesgo (174), una medida que en Cataluña se empezará a aplicar a partir de la temporada 2023-2024 (175). En referencia a los antivirales inhibidores de la neuraminidasa, en pediatría el de elección es el oseltamivir. Está indicado para pacientes con factores de riesgo y en aquellos con una gripe grave que requiere hospitalización (176,177). La máxima efectividad se consigue cuando se administra precozmente, entre las primeras 24-48 horas de haberse iniciado los síntomas. Es por

ello que para la prescripción precoz de estos fármacos deberíamos poder disponer en la consulta de atención primaria y en urgencias de test de diagnóstico rápido de gripe.

Por su parte, en la prevención del VRS el único fármaco comercializado hasta la fecha es el palivizumab. Las indicaciones se restringen a pacientes hasta los 2 años de edad con determinados factores de riesgo, disminuyendo las hospitalizaciones por VRS en estos pacientes (178). Aun así, actualmente se está investigando en anticuerpos monoclonales para la prevención del VRS que puedan administrarse a toda la población menor de 12 meses. En los ensayos clínicos, estos han demostrado una eficacia del 77,3% en evitar ingresos hospitalarios en lactantes que entran en la primera temporada de VRS (142). En este sentido la Agencia Europea del Medicamento aprobó a finales de 2022 la comercialización de nirsevimab para la prevención de la IRVB por VRS en recién nacidos y lactantes (49).

Para el hMPV, no existe por el momento ninguna vacuna, anticuerpo monoclonal o fármaco antiviral, aunque se está investigando en ello (179).

Otra medida que permitiría disminuir el coste es ajustar las pautas de diagnóstico y tratamiento a las recomendaciones de las guías de práctica clínica. En este sentido, los resultados del tercer trabajo demuestran que la publicación en 2015 de un nuevo protocolo de bronquiolitis, basado en las últimas guías y muy restrictivo en cuanto al uso de fármacos y a la realización de exploraciones complementarias, acompañado de sesiones dirigidas al personal médico para explicar las modificaciones en el protocolo y de una revisión diaria de los casos hospitalizados, mejoró sustancialmente la práctica clínica (22,33). Esto permitió disminuir la utilización de fármacos y la realización de exploraciones complementarias sin que se modificase la evolución clínica y, aunque no se analizó específicamente en este trabajo, es lógico pensar que esto se asoció a un menor coste de la hospitalización por la menor utilización de recursos. La disminución en la prescripción de fármacos y en la realización de exploraciones complementarias no fue homogéneo para cada uno de ellos. A nivel farmacológico, la disminución en la prescripción de adrenalina y SSH3 fue mucho más importante que la de salbutamol o corticoides. Esta diferencia probablemente se explique por la inclusión de pacientes mayores de 12 meses, en los que, según la literatura la prescripción de salbutamol y corticoides es más habitual que

en los menores de 12 meses (35). Otro de los fármacos que disminuyó de forma moderada su consumo fueron los antibióticos, una disminución en gran medida secundaria a la menor realización de radiografías de tórax ya que los hallazgos radiográficos de una bronquiolitis se pueden confundir con una neumonía bacteriana, aumentando la prescripción innecesaria de antibióticos (42). Finalmente, el número de analíticas de sangre fue similar en los dos períodos a pesar de tener unas indicaciones muy restrictivas (sólo debería realizarse en casos de sospecha de infección bacteriana donde se podrían incluir los menores de un mes con fiebre y los mayores de esta edad con signos clínicos, analíticos o radiográficos de infección bacteriana). En nuestra muestra sólo el 12,88% eran menores de un mes, esto añadido a que el riesgo de infección bacteriana en lactantes vacunados con infección por VRS es bajo, nos lleva a concluir que se realizaron un número innecesario de pruebas de laboratorio (180,181). Probablemente, estas analíticas se indicaron en pacientes con fiebre, para poder descartar signos analíticos de infección bacteriana, aunque como se ha comentado el riesgo fuera muy bajo. A pesar de la importante mejoría de la práctica clínica tras la publicación del protocolo del 2015, es necesario mantener las sesiones clínicas y la revisión periódica de los casos hospitalizados para detectar los motivos que expliquen que algunos fármacos sigan prescribiéndose y valorar la necesidad e indicación de las exploraciones complementarias realizadas a los pacientes. Creemos que buena parte del éxito de este protocolo es debido a estas medidas de educación de los profesionales médicos encargados de la asistencia de las bronquiolitis, tal y como se ha demostrado en otros estudios (42,182). Esta mejoría en la práctica clínica tiene impacto en el paciente, al disminuir la posible iatrogenia de los tratamientos y exploraciones, en los profesionales sanitarios al disminuir la carga de trabajo y en el sistema sanitario en general al disminuir el gasto sanitario.

Añadido al punto de vista clínico y virológico, los resultados presentados tienen interés a nivel de salud pública y demuestran que los datos estructurados de los que disponen los sistemas de la información del hospital aportan datos de interés que podrían ser incorporados a los actuales sistemas de vigilancia epidemiológica. Estos datos son fáciles de obtener al estar estructurados en la historia clínica electrónica del paciente.

A pesar de los cambios en los últimos años, no existe a nivel pediátrico en Cataluña un sistema de vigilancia que combinando datos epidemiológicos, virológicos y clínicos permita conocer el impacto de todos los virus en la enfermedad respiratoria del paciente pediátrico hospitalizado. El SIVIC, sistema de vigilancia para los virus respiratorios en Cataluña, actualmente en fase de despliegue, aporta de momento datos muy limitados del paciente pediátrico hospitalizado (43). A nivel hospitalario la información se centra básicamente en el número de ingresos hospitalarios, en UCI y defunciones por COVID-19, pero no aporta suficiente información sobre otras variables de interés como la duración de la estancia hospitalaria, la duración de la estancia en UCI o la necesidad de soporte respiratorio, que serían indicadores válidos de gravedad para todos los virus respiratorios. Es por esto que la aplicación de la metodología utilizada en el primer trabajo en los sistemas de vigilancia epidemiológica, permitiría monitorizar todos los virus respiratorios y aportar datos que reflejen el impacto que están teniendo en la gravedad de la epidemia y en el sistema sanitario, mejorando sobre todo la vigilancia de las IRVB virales más graves que son las que requieren hospitalización.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. El rinovirus y el virus respiratorio sincitial son los virus más prevalentes en el paciente pediátrico hospitalizado por una infección de vías respiratorias bajas, seguidos por el metapneumovirus humano. Los virus de la gripe, a pesar de ser menos prevalentes, son uno de los virus con mayor morbimortalidad asociada.
2. La edad menor de 12 meses, el sexo masculino y la presencia de enfermedades crónicas aumentan la gravedad de las infecciones respiratorias virales. Aun así, el 90% de los pacientes hospitalizados son previamente sanos.
3. Las sibilancias/agudizaciones asmáticas son los síntomas más frecuentes en el paciente pediátrico hospitalizado por una infección de vías respiratorias bajas de etiología viral, seguidos por la bronquiolitis y la neumonía. Sin embargo, por edades, las sibilancias/agudizaciones asmáticas y la neumonía son más prevalentes en niños entre los 2 y los 4 años, y la bronquiolitis en menores de 12 meses.
4. El virus respiratorio sincitial es el virus que más aumenta el riesgo de sufrir una bronquiolitis, el rinovirus el que comporta mayor riesgo de sibilancias agudas/agudizaciones asmáticas y los virus de la gripe los que se relacionan con mayor frecuencia con la neumonía.
5. El virus respiratorio sincitial y los virus de la gripe son los que ocasionan más morbilidad, evidenciada por la mayor duración de la estancia hospitalaria, la mayor necesidad de ingreso en la unidad de cuidados intensivos, de soporte respiratorio y de soporte mediante oxigenación por membrana extracorpórea. La mortalidad en nuestro medio es excepcional y se relaciona con infecciones por el virus respiratorio sincitial o el virus de la gripe A en pacientes con comorbilidades.
6. La estacionalidad antes de la pandemia de SARS-CoV-2 se caracterizaba por el pico de virus respiratorio sincitial en diciembre, seguido por la

gripe durante los meses de enero y febrero y el metapneumovirus humano en el período de marzo y abril. Durante la temporada 2020-2021, debido a la aplicación de las medidas no farmacológicas para contener la pandemia de COVID-19, junto a la interacción del SARS-CoV-2 con los virus previamente existentes, el patrón de circulación habitual de estos virus se vio interrumpido. Contrariamente, el rinovirus y el adenovirus humano sí que circularon durante este período, siendo los virus más prevalentes.

7. Más del 90% de las infecciones de vías respiratorias bajas virales pediátricas requiere hospitalización entre los meses de octubre a mayo, ocupando el 14% de las camas de las plantas de hospitalización convencional y el 7% de las camas de la unidad de cuidados intensivos pediátricos. Se asocian a un coste aproximado de 4.000€ por paciente hospitalizado.
8. Las bronquiolitis por virus respiratorio sincitial del subgrupo A, comparadas con las producidas por el virus respiratorio sincitial del subgrupo B, tienen peor pronóstico por la mayor duración de la estancia hospitalaria, mayor porcentaje de pacientes que requieren ingreso en la unidad de cuidados intensivos, mayor duración de la estancia en la unidad de cuidados intensivos y mayores requerimientos de soporte respiratorio.
9. Tras la actualización del protocolo de bronquiolitis del Hospital Infantil Vall d'Hebron, basado en las guías de práctica clínica de la Academia Americana de Pediatría del año 2014 y del *The National Institute for Health and Care Excellence* del año 2015, ha habido una adecuación de la práctica clínica con una disminución en la prescripción de fármacos y en la realización de exploraciones complementarias. Estos cambios no se han acompañado de una peor evolución clínica en el paciente hospitalizado.
10. Utilizar los datos estructurados ya existentes en la historia clínica electrónica del paciente para correlacionar la información

microbiológica con la clínica, permitiría ampliar la información que aportan los sistemas de vigilancia de los virus respiratorios y mejorar la vigilancia de las infecciones de vías respiratorias bajas pediátricas graves que son las que requieren hospitalización.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Zhu J, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000–15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet*. 2016;388(10063):3027–35.
2. Kassebaum NJ, Reiner RC, Olsen HE, Ikeda CT, Eshko MM, Ballestreros KE, et al. Diseases, Injuries, and Risk Factors in Child and Adolescent Health, 1990 to 2017: Findings from the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors 2017 Study. *JAMA Pediatr*. 2019;173(6):e190337.
3. World Health Organization. World health statistics 2019: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals [Internet]. Geneva; 2019. Accesible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565707>.
4. Lambert SB, Allen KM, Carter RC, Nolan TM. The cost of community-managed viral respiratory illnesses in a cohort of healthy preschool-aged children. *Respir Res*. 2008;9(1):11.
5. Gil-Prieto R, Gonzalez-Escalada A, Marín-García P, Gallardo-Pino C, Gil-De-Miguel A. Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in Children up to 5 Years of Age in Spain: Epidemiology and Comorbidities: An Observational Study. *Medicine*. 2015;94(21):e831.
6. Ministerio de Sanidad. Patrones de mortalidad en España, 2017 [Internet]. Madrid; 2020. Accesible en: <https://www.sanidad.gob.es/estadEstudios/estadisticas/estadisticas/estMinisterio/mortalidad/informacionAnual.htm>
7. GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(11):1191–210.
8. Troeger CE, Khalil IA, Blacker BF, Biehl MH, Albertson SB, Zimsen SRM, et al. Quantifying risks and interventions that have affected the burden of lower respiratory infections among children younger than 5 years: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(1):60–79.
9. Spanish Ministry of Health Social Services and Equality. Annual Report on the National Health System of Spain 2016 [Internet]. Madrid; 2016. Accesible en: <http://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/sisInfSanSNS/tablasEstadisticas/InfAnSNS.htm>
10. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, Secretaría general de atención sanitaria. Registro de Actividad de Atención Especializada-RAE-CMBD

- [Internet]. Accesible en:
<https://pestadistico.inteligenciadegestion.sanidad.gob.es/publicoSNS/comun/ArbolNodos.aspx?idNodo=23525>).
11. Muñoz-Quiles C, López-Lacort M, Úbeda-Sansano I, Alemán-Sánchez S, Pérez-Vilar S, Puig-Barberà J, et al. Population-based analysis of bronchiolitis epidemiology in Valencia, Spain. *Pediatr Infect Dis J*. 2016;35(3):275–80.
 12. Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet*. 2011;377(9773):1264–75.
 13. Jartti T, Gern JE. Role of viral infections in the development and exacerbation of asthma in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(4):895–906.
 14. Li Y, Wang X, Blau DM, Caballero MT, Feikin DR, Gill CJ, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022;399(10340):2047–64.
 15. Li Y, Reeves RM, Wang X, Bassat Q, Brooks WA, Cohen C, et al. Global patterns in monthly activity of influenza virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and metapneumovirus: a systematic analysis. *Lancet Glob Health*. 2019;7(8):e1031–45.
 16. Moriyama M, Hugentobler WJ, Iwasaki A. Seasonality of Respiratory Viral Infections. *Annu Rev Virol*. 2020;7(1):83–101.
 17. King C, Kirkham J, Hawcutt D, Sinha I. The effect of outdoor air pollution on the risk of hospitalisation for bronchiolitis in infants: A systematic review. *PeerJ*. 2018;2018(8):1–18.
 18. Martín Martín R, Sánchez Bayle M. Impacto de la contaminación ambiental en las consultas pediátricas de Atención Primaria: estudio ecológico. *An Pediatr (Barc)*. 2018;89(2):80–5.
 19. van Summeren Jojanneke, Meijer Adam, Aspelund Guðrún, Casalegno Jean Sebastien, Erna Guðrún, Hoang Uy, Lina Bruno, VRS study group in Lyon, de Lusignan Simon, Teirlinck Anne C., Thors Valtýr PJ. Low levels of respiratory syncytial virus activity in Europe during the 2020/21 season: what can we expect in the coming summer and autumn/winter? *Euro Surveill*. 2021;26(29):pii=2100639.
 20. European Centre for Disease Prevention and Control. Seasonal influenza. En: ECDC. Annual epidemiological report 2020 [Internet]. Stockholm: ECDC; 2021. Accesible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/seasonal-influenza-annual-epidemiological-report-2020-2021>

21. Lieberthal AS, Bauchner H, Hall CB, Johnson DW, Kotagal U, Light MJ, et al. Diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2006;118(4):1774–93.
22. National Institute for Health and Clinical Excellence. Bronchiolitis in children: diagnosis and management (NICE guideline NG9) [Internet]. 2015. Accesible en: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng9>
23. Florin TA, Plint AC, Zorc JJ. Viral bronchiolitis. *Lancet*. 2017;389(10065):211–24.
24. Meissner HC. Viral bronchiolitis in children. *N Engl J Med*. 2016;374(1):62–72.
25. Shi T, Balsells E, Wastnedge E, Singleton R, Rasmussen ZA, Zar HJ, et al. Risk factors for respiratory syncytial virus associated with acute lower respiratory infection in children under five years: Systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2015;5(2):020416.
26. Maedel C, Kainz K, Frischer T, Reinweber M, Zacharasiewicz A. Increased severity of respiratory syncytial virus airway infection due to passive smoke exposure. *Pediatr Pulmonol*. 2018;53(9):1299–306.
27. Ramos-Fernández JM, Hernández-Yuste A, Gutiérrez-Bedmar M, Cordón Martínez AM, Moreno-Pérez D. Does exposure of pregnant women to epidemic respiratory syncytial virus affect the severity of bronchiolitis? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37(4):251–5.
28. Mira-Iglesias A, Demont C, López-Labrador FX, Mengual-Chuliá B, García-Rubio J, Carballido-Fernández M, et al. Role of age and birth month in infants hospitalized with RSV- confirmed disease in the Valencia Region, Spain. *Influenza Other Respir Viruses*. 2022;16(2):328–39.
29. Ricart S, Marcos MA, Sarda M, Anton A, Muñoz-Almagro C, Pumarola T, et al. Clinical risk factors are more relevant than respiratory viruses in predicting bronchiolitis severity. *Pediatr Pulmonol*. 2013;48(5):456–63.
30. Murray J, Bottle A, Sharland M, Modi N, Aylin P, Majeed A, et al. Risk factors for hospital admission with RSV bronchiolitis in England: A population-based birth cohort study. *PLoS One*. 2014;9(2).
31. Miller EK, Gebretsadik T, Carroll KN, Dupont WD, Mohamed YA, Morin LL, et al. Viral etiologies of infant bronchiolitis, croup and upper respiratory illness during 4 consecutive years. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32(9):950–5.
32. Hasegawa K, Goto T, Hirayama A, Laham FR, Mansbach JM, Piedra PA, et al. Respiratory Virus Epidemiology among US Infants with Severe Bronchiolitis: Analysis of 2 Multicenter, Multiyear Cohort Studies. *Pediatr Infect Dis J*. 2019;38(8):E180–3.

33. Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Baley JE, Gadomski AM, et al. Clinical Practice Guideline: The Diagnosis, Management, and Prevention of Bronchiolitis. *Pediatrics*. 2014;134(5):e1474–502.
34. Parikh K, Hall M, Teach SJ. Bronchiolitis Management Before and After the AAP Guidelines. *Pediatrics*. 2014;133(1):e1–7.
35. Korppi M, Mecklin M, Heikkilä P. Review shows substantial variations in the use of medication for infant bronchiolitis between and within countries. *Acta Paediatr*. 2019;108(6):1016–22.
36. Schuh S, Babl FE, Dalziel SR, Freedman SB, Macias CG, Stephens D, et al. Practice Variation in Acute Bronchiolitis: A Pediatric Emergency Research Networks Study. *Pediatrics*. 2017;140(6):e20170842.
37. Schuh S, Freedman S, Coates A, Allen U, Parkin PC, Stephens D, et al. Effect of oximetry on hospitalization in bronchiolitis a randomized clinical trial. *JAMA*. 2014;312(7):712–8.
38. McCulloh R, Koster M, Ralston S, Johnson M, Hill V, Koehn K, et al. Use of intermittent vs continuous pulse oximetry for nonhypoxemic infants and young children hospitalized for bronchiolitis: A randomized clinical trial. *JAMA Pediatr*. 2015;169(10):898–904.
39. Hunt CE, Corwin MJ, Lister G, Weese-Mayer DE, Neuman MR, Tinsley L, et al. Longitudinal assessment of hemoglobin oxygen saturation in healthy infants during the first 6 months of age. *J Pediatr*. 1999;135(5):580–6.
40. Schuh S, Lalani A, Allen U, Manson D, Babyn P, Stephens D, et al. Evaluation of the Utility of Radiography in Acute Bronchiolitis. *J Pediatr*. 2007;150(4):429–33.
41. Ecochard-Dugelay E, Beliah M, Perreaux F, de Laveaucoupet J, Bouyer J, Epaud R, et al. Clinical predictors of radiographic abnormalities among infants with bronchiolitis in a paediatric emergency department. *BMC Pediatr*. 2014;14:143.
42. Breakell R, Thorndyke B, Clennett J, Harkensee C. Reducing unnecessary chest X-rays, antibiotics and bronchodilators through implementation of the NICE bronchiolitis guideline. *Eur J Pediatr*. 2017;177(1):47–51.
43. Generalitat de Catalunya Departament de Salut. Sistema d'informació per a la vigilància d'infeccions a Catalunya [Internet]. Accesible en: <https://sivic.salut.gencat.cat/>
44. Rodríguez-Martínez CE, Sossa-Briceño MP, Nino G. Systematic review of instruments aimed at evaluating the severity of bronchiolitis. *Paediatr Respir Rev*. 2018;25:43–57.

45. Bekhof J, Reimink R, Brand PLP. Systematic review: Insufficient validation of clinical scores for the assessment of acute dyspnoea in wheezing children. *Paediatr Respir Rev*. 2014;15:98–112.
46. Balaguer M, Alejandro C, Vila D, Esteban E, Carrasco JL, Cambra FJ, et al. Bronchiolitis Score of Sant Joan de Déu: BROSJOD Score, validation and usefulness. *Pediatr Pulmonol*. 2017;52(4):533–9.
47. Figueras Aloy J, Carbonell Estrany X, Comité de Estándares de la SENEo. Update of recommendations on the use of palivizumab as prophylaxis in RSV infections. *An Pediatr (Barc)*. 2015;82(3):199.e1-199.e2.
48. Behzadi MA, Leyva-Grado VH. Overview of current therapeutics and novel candidates against influenza, respiratory syncytial virus, and Middle East respiratory syndrome coronavirus infections. *Front Microbiol*. 2019;10:1327.
49. European Medicines Agency. Beyfortus [Internet]. Accesible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/beyfortus>
50. Gadomski AM, Scribani MB. Bronchodilators for bronchiolitis. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2014;6:CD001266.
51. Hartling L, Russell KF, Patel H, Klassen TP, Liang Y. Epinephrine for bronchiolitis. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2011;6:CD003123.
52. Fernandes RM, Bialy L, Vandermeer B, Tjosvold L, Plint A, Patel H, et al. Glucocorticoids for acute viral bronchiolitis in infants and young children. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2013;6:CD004878.
53. Mandelberg A, Amirav I. Hypertonic saline or high volume normal saline for viral bronchiolitis: Mechanisms and rationale. *Pediatr Pulmonol*. 2010;45:36–40.
54. Zhang L, Mendoza-Sassi RA, Wainwright C, Klassen TP. Nebulised hypertonic saline solution for acute bronchiolitis in infants. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2013;(7):CD006458.
55. Zhang L, Mendoza-Sassi RA, Klassen TP, Wainwright C. Nebulized Hypertonic Saline for Acute Bronchiolitis: A Systematic Review. *Pediatrics*. 2015;136(4):687–701.
56. Zhang L, Mendoza-Sassi R, Wainwright C, Klassen T. Nebulized hypertonic saline solution for acute bronchiolitis in infants. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2017;(12):CD006458.
57. Brooks CG, Harrison WN, Ralston SL. Association between hypertonic saline and hospital length of stay in acute viral bronchiolitis: A reanalysis of 2 meta-analyses. *JAMA Pediatr*. 2016;170(6):577–84.

58. Andrés Martín A, Moreno-Pérez D, Alfayate Miguélez S, Couceiro Gianzo JA, García García ML, Korta Murua J, et al. Etiología y diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y sus formas complicadas. *An Pediatr (Barc)*. 2012;76(3):162.e1-162.e18.
59. Wardlaw TM, Johansson EW, Hodge M, World Health Organization & The United Nations Children's Fund. Pneumonia: the forgotten killer of children [Internet]. 2006. Accesible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43640>
60. Principi N, Esposito S. Biomarkers in pediatric community-acquired pneumonia. *Int J Mol Sci*. 2017;18(2):447.
61. Flood RG, Badik J, Aronoff SC. The utility of serum C-reactive protein in differentiating bacterial from nonbacterial pneumonia in children: A meta-analysis of 1230 children. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27(2):95–9.
62. Galván JM, Rajas O, Aspa J. Review of Non-bacterial Infections in Respiratory Medicine: Viral Pneumonia. *Arch Bronconeumol*. 2015;51(11):590–7.
63. Kengne-Nde C, Kenmoe S, Modiyinji AF, Njouom R. Prevalence of respiratory viruses using polymerase chain reaction in children with wheezing, a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243735.
64. Mejias A, Wu B, Tandon N, Chow W, Varma R, Franco E, et al. Risk of childhood wheeze and asthma after respiratory syncytial virus infection in full-term infants. *Pediatr Allergy Immunol*. 2020;31(1):47–56.
65. Coverstone AM, Wang L, Sumino K. Beyond Respiratory Syncytial Virus and Rhinovirus in the Pathogenesis and Exacerbation of Asthma. *Immunol Allergy Clin N Am*. 2019;39(3):391–401.
66. Moreno-Galdó A, Pérez-Yarza EG, Ramilo O, Rubí T, Escribano A, Torres A, et al. Recurrent wheezing during the first 3 years of life in a birth cohort of moderate-to-late preterm infants. *Pediatr Allergy Immunol*. 2020;31(2):124–32.
67. Cloutier MM, Baptist AP, Blake K v., Brooks EG, Bryant-Stephens T, DiMango E, et al. 2020 Focused Updates to the Asthma Management Guidelines: A Report from the National Asthma Education and Prevention Program Coordinating Committee Expert Panel Working Group. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(6):1217–70.
68. Kilbourne ED. Pandora's Box and the History of the Respiratory Viruses : A Case Study of Serendipity in Research. *Hist Philos Life Sci*. 1992;14(2):299–308.
69. Woolhouse M, Scott F, Hudson Z, Howey R, Chase-Topping M. Human viruses: Discovery and emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2012;367(1604):2864–71.

70. Shi T, McLean K, Campbell H, Nair H. Aetiological role of common respiratory viruses in acute lower respiratory infections in children under five years: A systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2015;5(1):010408.
71. Calvo C, García-García ML, Ambrona P, Rico M, Pozo F, Molinero MaDM, et al. The burden of infections by parainfluenza virus in hospitalized children in Spain. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(9):792–4.
72. Paules C, Subbarao K. Influenza. *Lancet*. 2017;390(10095):697–708.
73. Wang X, Li Y, O'Brien KL, Madhi SA, Widdowson MA, Byass P, et al. Global burden of respiratory infections associated with seasonal influenza in children under 5 years in 2018: a systematic review and modelling study. *Lancet Glob Health*. 2020;8(4):e497–510.
74. Oh YN, Kim S, Choi YB, Woo S il, Hahn YS, Lee JK. Clinical similarities between influenza A and B in children: A single-center study, 2017/18 season, Korea. *BMC Pediatr*. 2019;19(1):472.
75. Rima B, Collins P, Easton A, Fouchier R, Kurath G, Lamb RA, et al. ICTV virus taxonomy profile: Pneumoviridae. *J Gen Virol*. 2017;98(12):2912–3.
76. Griffiths C, Drews SJ, Marchant DJ. Respiratory syncytial virus: Infection, detection, and new options for prevention and treatment. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(1):277–319.
77. Johnson PR, Olmsted RA, Prince GA, Murphy BR, Alling DW, Walsh EE, et al. Antigenic relatedness between glycoproteins of human respiratory syncytial virus subgroups A and B: evaluation of the contributions of F and G glycoproteins to immunity. *J Virol*. 1987;61(10):3163–6.
78. Gimferrer L, Vila J, Piñana M, Andrés C, Rodrigo-Pendás JA, Peremiquel-Trillas P, et al. Virological surveillance of human respiratory syncytial virus A and B at a tertiary hospital in Catalonia (Spain) during five consecutive seasons (2013-2018). *Future Microbiol*. 2019;14:373–81.
79. Piñana M, González-Sánchez A, Andrés C, Vila J, Creus-Costa A, Saubi N, et al. Surveillance and evolution of human respiratory syncytial virus by whole genome sequencing during the 2013-2022 seasons in Barcelona, Spain. Poster presentado en: RSVVW'23. 7th ReSViNET Conference; 2023 feb 22-24; Lisboa, Portugal.
80. Boncristiani HF, Criado MF, Arruda E. Respiratory Viruses. *Encyclopedia of Microbiology*. 2009;500–18.
81. Ogra PL. Respiratory syncytial virus: The virus, the disease and the immune response. *Paediatr Respir Rev*. 2004;5 Suppl A:S119–S126.

82. Laham FR, Mansbach JM, Piedra PA, Hasegawa K, Sullivan AF, Espinola JA, et al. Clinical Profiles of Respiratory Syncytial Virus Subtypes A and B among Children Hospitalized with Bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36(8):808–10.
83. Ciarlito C, Vittucci AC, Antilici L, Concato C, di Camillo C, Zangari P, et al. Respiratory Syncytial Virus A and B: Three bronchiolitis seasons in a third level hospital in Italy. *Ital J Pediatr*. 2019;45(1):115.
84. Calderon A, Pozo F, Calvo C, García-García ML, González-Esquivillas M, Molinero M, et al. Genetic Variability of Respiratory Syncytial Virus A in Hospitalized Children in the Last Five Consecutive Winter Seasons in Central Spain. *J Med Virol*. 2017;89(5):767–74.
85. Esposito S, Piralla A, Zampiero A, Bianchini S, di Pietro G, Scala A, et al. Characteristics and their clinical relevance of respiratory syncytial virus types and genotypes circulating in Northern Italy in five consecutive winter seasons. *PLoS One*. 2015;10(6):e0129369.
86. Streng A, Goettler D, Haerlein M, Lehmann L, Ulrich K, Prifert C, et al. Spread and clinical severity of respiratory syncytial virus A genotype ON1 in Germany, 2011-2017. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):613.
87. Panayiotou C, Richter J, Koliou M, Kalogirou N, Georgiou E, Christodoulou C. Epidemiology of respiratory syncytial virus in children in Cyprus during three consecutive winter seasons (2010-2013): Age distribution, seasonality and association between prevalent genotypes and disease severity. *Epidemiol Infect*. 2014;142(11):2406–11.
88. Midulla F, Nenna R, Scagnolari C, Petrarca L, Frassanito A, Viscido A, et al. How Respiratory Syncytial Virus Genotypes Influence the Clinical Course in Infants Hospitalized for Bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2019;219(4):526–34.
89. Amarasinghe GK, Ayllón MA, Bào Y, Basler CF, Bavari S, Blasdell KR, et al. Taxonomy of the order Mononegavirales: update 2019. *Arch Virol*. 2019;164(7):1967–80.
90. Jagušić M, Slović A, Ljubin-Sternak S, Mlinarić-Galinović G, Forčić D. Genetic diversity of human metapneumovirus in hospitalized children with acute respiratory infections in Croatia. *J Med Virol*. 2017;89(11):1885–93.
91. Wang X, Li Y, Deloria-Knoll M, Madhi SA, Cohen C, Ali A, et al. Global burden of acute lower respiratory infection associated with human metapneumovirus in children under 5 years in 2018: a systematic review and modelling study. *Lancet Glob Health*. 2021;9(1):e33–43.
92. Piñana M, Vila J, Maldonado C, Galano-Frutos JJ, Valls M, Sancho J, et al. Insights into immune evasion of human metapneumovirus: novel 180- and 111-

- nucleotide duplications within viral G gene throughout 2014–2017 seasons in Barcelona, Spain. *J Clin Virol.* 2020;132:104590.
93. Divarathna MVM, Rafeek RAM, Noordeen F. A review on epidemiology and impact of human metapneumovirus infections in children using TIAB search strategy on PubMed and PubMed Central articles. *Rev Med Virol.* 2020;30(1):e2090.
 94. García-García ML, Calvo C, Rey C, Díaz B, Molinero MDM, Pozo F, et al. Human metapneumovirus infections in hospitalized children and comparison with other respiratory viruses. 2005–2014 prospective study. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173504.
 95. Papenburg J, Hamelin MÈ, Ouhoumane N, Carbonneau J, Ouakki M, Raymond F, et al. Comparison of risk factors for human metapneumovirus and respiratory syncytial virus disease severity in young children. *J Infect Dis.* 2012;206(2):178–89.
 96. Vicente D, Montes M, Cilla G, Perez-Yarza EG, Perez-Trallero E. Differences in Clinical Severity between Genotype A and Genotype B Human Metapneumovirus Infection in Children. *Clin Infect Dis.* 2006;42(12):e111–3.
 97. Agapov E, Sumino KC, Gaudreault-Keener M, Storch GA, Holtzman MJ. Genetic variability of human metapneumovirus infection: Evidence of a shift in viral genotype without a change in illness. *J Infect Dis.* 2006;193(3):396–403.
 98. Esposito S, Zampiero A, Bianchini S, Mori A, Scala A, Tagliabue C, et al. Epidemiology and clinical characteristics of respiratory infections due to adenovirus in children living in Milan, Italy, during 2013 and 2014. *PLoS One.* 2016;11(4):e0152375.
 99. Yao LH, Wang C, Wei TL, Wang H, Ma FL, Zheng LS. Human adenovirus among hospitalized children with respiratory tract infections in Beijing, China, 2017–2018. *Virol J.* 2019;16(1):78.
 100. Van der Hoek L. Human coronaviruses : What do they cause ? *Antivir Ther.* 2007;12(4 Pt B):651–658.
 101. Weiss SR. Forty years with coronaviruses. *J Exp Med.* 2020;217(5):e20200537.
 102. Zeng ZQ, Chen DH, Tan WP, Qiu SY, Xu D, Liang HX, et al. Epidemiology and clinical characteristics of human coronaviruses OC43, 229E, NL63, and HKU1: a study of hospitalized children with acute respiratory tract infection in Guangzhou, China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(2):363–9.
 103. Van Der Hoek L, Pyrc K, Berkhout B. Human coronavirus NL63, a new respiratory virus. *FEMS Microbiol Rev.* 2006;30(5):760–73.

104. Heimdal I, Moe N, Krokstad S, Christensen A, Skanke LH, Nordbø SA, et al. Human coronavirus in hospitalized children with respiratory tract infections: A 9-year population-based study from Norway. *J Infect Dis.* 2019;219(8):1198–206.
105. Jevšnik M, Uršič T, Žigon N, Lusa L, Krivec U, Petrovec M. Coronavirus infections in hospitalized pediatric patients with acute respiratory tract disease. *BMC Infect Dis.* 2012;12:365.
106. Mehta NS, Mytton OT, Mullins EWS, Fowler TA, Falconer CL, Murphy OB, et al. SARS-CoV-2 (COVID-19): What Do We Know about Children? A Systematic Review. *Clin Infect Dis.* 2020;71(9):2469–79.
107. Badal S, Bajgain KT, Badal S, Thapa R, Bajgain BB, Santana MJ. Prevalence, clinical characteristics, and outcomes of pediatric COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol.* 2021;135:104715.
108. Brown DM, Zhang Y, Scheuermann RH. Epidemiology and sequence-based evolutionary analysis of circulating non-polio enteroviruses. *Microorganisms.* 2020;8(12):1856.
109. Calvo C, García-García ML, Blanco C, Pozo F, Flecha IC, Pérez-Breña P. Role of rhinovirus in hospitalized infants with respiratory tract infections in Spain. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26(10):904–8.
110. Vandini S, Biagi C, Fischer M, Lanari M. Impact of rhinovirus infections in children. *Viruses.* 2019;11(6):521.
111. Kennedy JL, Pham S, Borish L. Rhinovirus and Asthma Exacerbations. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2019;39(3):335–44.
112. Guido M, Tumolo MR, Verri T, Romano A, Serio F, De Giorgi M, et al. Human bocavirus: Current knowledge and future challenges. *World J Gastroenterol.* 2016;22(39):8684–97.
113. Christensen A, Kesti O, Elenius V, Eskola AL, Døllner H, Altunbulakli C, et al. Human bocaviruses and paediatric infections. *Lancet Child Adolesc Health.* 2019;3(6):418–26.
114. Mohammadi M, Armin S, Yazdanpour Z. Human bocavirus infections and co-infections with respiratory syncytial virus and Rotavirus in children with acute respiratory or gastrointestinal disease. *Braz J Microbiol.* 2020;51(1):45–51.
115. Petrarca L, Nenna R, Frassanito A, Pierangeli A, di Mattia G, Scagnolari C, et al. Human bocavirus in children hospitalized for acute respiratory tract infection in Rome. *World J Pediatr.* 2020;16(3):293–8.
116. Piñana M, Vila J, Andrés C, Saura J, González-Sánchez A, Creus-Costa A, et al. Molecular characterization and clinical impact of human bocavirus at a tertiary

- hospital in Barcelona (Catalonia, Spain) during the 2014-2017 seasons. *Infection*. 2022;1–9.
117. Gu YE, Park JY, Lee MK, Lim IS. Characteristics of human parainfluenza virus type 4 infection in hospitalized children in Korea. *Pediatr Int*. 2020;62(1):52–8.
 118. Zhong P, Zhang H, Chen X, Lv F. Clinical characteristics of the lower respiratory tract infection caused by a single infection or coinfection of the human parainfluenza virus in children. *J Med Virol*. 2019;91(9):1625–32.
 119. Baggen J, Thibaut HJ, Strating JRPM, van Kuppeveld FJM. The life cycle of non-polio enteroviruses and how to target it. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(6):368–81.
 120. Lugo D, Krogstad P. Enteroviruses in the early 21st century: New manifestations and challenges. *Curr Opin Pediatr*. 2016;28(1):107–13.
 121. Holm-Hansen CC, Midgley SE, Fischer TK. Global emergence of enterovirus D68: A systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(5):e64–75.
 122. de Crom SCM, Rossen JWA, van Furth AM, Obihara CC. Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview. *Eur J Pediatr*. 2016;175(8):1023–9.
 123. Lee KY. Enterovirus 71 infection and neurological complications. *Korean J Pediatr*. 2016;59(10):395–401.
 124. Wu A, Mihaylova VT, Landry ML, Foxman EF. Interference between rhinovirus and influenza A virus: a clinical data analysis and experimental infection study. *Lancet Microbe*. 2020;1(6):e254–e262.
 125. Gonzalez A, Ijezie E, Balemba O, Miura T. Attenuation of Influenza A Virus Disease Severity by Viral Coinfection in a Mouse Model. *J Virol*. 2018;92(23):e00881-18.
 126. Richard N, Komurian-Pradel F, Javouhey E, Perret M, Rajoharison A, Bagnaud A, et al. The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27(3):213–7.
 127. Mansbach, Jonathan M, Piedra PA, Teach SJ, Sullivan A, Forgey T, Clark S, Espinola JA, et al. Prospective multicenter study of viral etiology and hospital length of stay in children with severe bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2012;166(8):700–6.
 128. Scotta MC, Chakr VCBG, de Moura A, Becker RG, de Souza APD, Jones MH, et al. Respiratory viral coinfection and disease severity in children: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol*. 2016;80:45–56.

129. Meskill SD, O'Bryant SC. Respiratory Virus Co-infection in Acute Respiratory Infections in Children. *Curr Infect Dis Rep.* 2020;22(1):3.
130. Leland DS, Ginocchio CC. Role of cell culture for virus detection in the age of technology. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(1):49–78.
131. Busson L, Bartiaux M, Brahim S, Konopnicki D, Dauby N, Gérard M, et al. Prospective evaluation of diagnostic tools for respiratory viruses in children and adults. *J Virol Methods.* 2019;266:1–6.
132. Wishaupt JO, Versteegh FGA, Hartwig NG. PCR testing for paediatric acute respiratory tract infections. *Paediatr Respir Rev.* 2015;16:43–8.
133. AlGhounaim M, Xiao Y, Caya C, Papenburg J. Diagnostic yield and clinical impact of routine cell culture for respiratory viruses among children with a negative multiplex RT-PCR result. *J Clin Virol.* 2017;94:107–9.
134. Datta S, Budhaliya R, Das B, Chatterjee S, Vanlalhmuaka, Veer V. Next-generation sequencing in clinical virology: Discovery of new viruses. *World J Virol.* 2015;4(3):265–76.
135. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Sistema de Vigilancia de la Gripe en España [Internet]. Accesible en: <https://vgripe.isciii.es/inicio.do;jsessionid=AE3C872ECAB0AAAF68FF398FEAEB3D5D>
136. European Centre for Disease Prevention and Control. European Influenza Surveillance Network (EISN) [Internet]. Accesible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/eisn>
137. World Health Organization. Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) [Internet]. Accesible en: <https://www.who.int/initiatives/global-influenza-surveillance-and-response-system>
138. Hospital Sant Joan de Déu. Programes de suport a altres hospitals de Catalunya [Internet]. Available from: <https://www.sjdhospitalbarcelona.org/ca/professionals/programes-altres-centres-sanitaris/programes-suport-altres-hospitals-catalunya>
139. Vila J, Lera E, Andrés C, Piñana M, Rello-Saltor V, Tobeña-Rué M, et al. The burden of non-SARS-CoV2 viral lower respiratory tract infections in hospitalized children in Barcelona (Spain): A long-term, clinical, epidemiologic and economic study. *Influenza Other Respir Viruses.* 2023;17(1):e13085.
140. Vila J, Lera E, Peremiquel-Trillas P, Andrés C, Martínez L, Barceló I, et al. Increased Rsv-A Bronchiolitis Severity In Rsv Infected Children Admitted To A

- Reference Center In Catalonia (Spain) Between 2014 And 2018. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2023;piad009.
141. Vila J, Lera E, Peremiquel-Trillas P, Martínez L, Barceló I, Andrés C, et al. Management of Hospitalized Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in the Pediatric Ward in Spain: Assessing the Impact of a New Clinical Practice Protocol. *Pediatr Drugs.* 2022;24(1):63–71.
 142. Hammitt LL, Dagan R, Yuan Y, Baca Cots M, Bosheva M, Madhi SA, et al. Nirsevimab for Prevention of RSV in Healthy Late-Preterm and Term Infants. *N Engl J Med.* 2022;386(9):837–46.
 143. Tregoning JS, Flight KE, Higham SL, Wang Z, Pierce BF. Progress of the COVID-19 vaccine effort: viruses, vaccines and variants versus efficacy, effectiveness and escape. *Nat Rev Immunol.* 2021 Oct;21(10):626-636.
 144. Andrés C, Vila J, Gimferrer L, Piñana M, Esperalba J, Codina MG, et al. Surveillance of enteroviruses from paediatric patients attended at a tertiary hospital in Catalonia from 2014 to 2017. *J Clin Virol.* 2019;110:29–35.
 145. Thwaites R, Buchan S, Fullarton J, Morris C, Grubb EB, Rodgers-Gray B, et al. Clinical burden of severe respiratory syncytial virus infection during the first 2 years of life in children born between 2000 and 2011 in Scotland. *Eur J Pediatr.* 2020;179(5):791–9.
 146. Lipoldová M, Demant P. Gene-Specific Sex Effects on Susceptibility to Infectious Diseases. *Front Immunol.* 2021;12:712688.
 147. Schuurhof A, Bont L, Siezen CLE, Hodemaekers H, Van Houwelingen HC, Kimman TG, et al. Interleukin-9 polymorphism in infants with respiratory syncytial virus infection: An opposite effect in boys and girls. *Pediatr Pulmonol.* 2010;45(6):608–13.
 148. Regis E, Fontanella S, Lin L, Howard R, Haider S, Curtin JA, et al. Sex differences in innate anti-viral immune responses to respiratory viruses and in their clinical outcomes in a birth cohort study. *Sci Rep.* 2021;11(1):23741.
 149. Prasad N, Widdowson MA, Pierse N, Seeds R, Wood T, Newbern EC, et al. Interactive effects of age and respiratory virus on severe lower respiratory infection. *Epidemiol Infect.* 2018;146(14):1861–9.
 150. Heinonen S, Rodriguez-Fernandez R, Diaz A, Rodriguez-Pastor SO, Ramilo O, Mejias A. Infant Immune Response to Respiratory Viral Infections. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2019;39(3):361–76.
 151. Hall CB, Weinberg GA, Blumkin AK, Edwards KM, Staat MA, Schultz AF, et al. Respiratory Syncytial Virus-Associated Hospitalizations Among Children Less Than 24 Months of Age. *Pediatrics.* 2013;132(2):e341–8.

152. Antón A, Marcos M, Torner N, Isanta R, Camps M, Martínez A, et al. Virological surveillance of influenza and other respiratory viruses during six consecutive seasons from 2006 to 2012 in Catalonia, Spain. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(6):564.e1-564.e9.
153. Hiroi S, Morikawa S, Nakata K, Kase T. Surveillance of adenovirus respiratory infections in children from Osaka, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2017;70(6):666–8.
154. Kondrich J, Rosenthal M. Influenza in children. *Curr Opin Pediatr.* 2017;29(3):297–302.
155. Coma E, Vila J, Méndez-boo L, Antón A. Respiratory Syncytial Virus Infections in Young Children Presenting to Primary Care in Catalonia During the COVID-19 Pandemic. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2022;11(2):69–72.
156. Tuladhar E, Hazeleger WC, Koopmans M, Zwietering MH, Duizer E, Beumer RR. Reducing viral contamination from finger pads: handwashing is more effective than alcohol-based hand disinfectants. *J Hosp Infect.* 2015;90(3):226–34.
157. Leung NHL, Chu DKW, Shiu EYC, Kwok-Hung Chan, James J McDevitt BJPH, Yen HL, Li Y, et al. Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. *Nat Med.* 2020;26(5):676–80.
158. Stein M, Cohen H, Nemet I, Atari N, Kliker L, Fratty IS, et al. Human metapneumovirus prevalence during 2019-2021 in Israel is influenced by the COVID-19 pandemic. *Int J Infect Dis.* 2022;120:205–9.
159. Haddadin Z, Rankin DA, Lipworth L, Suh M, McHenry R, Blozinski A, et al. Respiratory Virus Surveillance in Infants across Different Clinical Settings. *J Pediatr.* 2021;234:164-171.e2.
160. Hani N, Gornick W, Huff B, Atienza J, Singh J. Human Metapneumovirus Infection in a Children’s Hospital – It Should Get More Attention. *Pediatr Infect Dis J.* 2022;41(4):284–9.
161. Davis CR, Stockmann C, Pavia AT, Byington CL, Blaschke AJ, Hersh AL, et al. Incidence, morbidity, and costs of human metapneumovirus infection in hospitalized children. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2016;5(3):303–11.
162. Kalil AC, Thomas PG. Influenza virus-related critical illness: Pathophysiology and epidemiology. *Crit Care.* 2019;23(1):258.
163. Adams O, Weis J, Jasinska K, Vogel M, Tenenbaum T. Comparison of Human Metapneumovirus, Respiratory Syncytial Virus and Rhinovirus Respiratory Tract Infections in Young Children Admitted to Hospital. *J Med Virol.* 2015;87(2):275–80.

164. Pham H, Thompson J, Wurzel D, Duke T. Ten years of severe respiratory syncytial virus infections in a tertiary paediatric intensive care unit. *J Paediatr Child Health*. 2020;56(1):61–7.
165. Rijsbergen LC, Lamers MM, Comvalius AD, Koutstaal RW, Schipper D, Duprex WP, et al. Human Respiratory Syncytial Virus Subgroup A and B Infections in Nasal, Bronchial, Small-Airway, and Organoid-Derived Respiratory Cultures. *mSphere*. 2021;6(3):e00237-21.
166. Rodriguez-Fernandez R, Tapia LI, Yang CF, Torres JP, Chavez-Bueno S, Garcia C, et al. Respiratory syncytial virus genotypes, host immune profiles, and disease severity in young children hospitalized with bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2017;217:24–34.
167. Savolainen-Kopra C, Korpela T, Simonen-Tikka ML, Amirousetfi A, Ziegler T, Roivainen M, et al. Single treatment with ethanol hand rub is ineffective against human rhinovirus-hand washing with soap and water removes the virus efficiently. *J Med Virol*. 2012;84(3):543–7.
168. Societat Catalana de Pediatria. Full informatiu per les famílies sobre la bronquiolitis [Internet]. 2022. Accessible en: <http://www.scpediatrics.cat/?p=page/html/detallnoticia/5305>
169. Sanz-Muñoz I, Tamames-Gómez S, Castrodeza-Sanz J, María Eiros-Bouza J, Ortiz De Lejarazu-Leonardo R. Social Distancing, Lockdown and the Wide Use of Mask; A Magic Solution or a Double-Edged Sword for Respiratory Viruses Epidemiology? *Vaccines*. 2021;9(6):595.
170. Feldstein LR, Ogokeh C, Rha B, Weinberg GA, Staat MA, Selvarangan R, et al. Vaccine Effectiveness against Influenza Hospitalization among Children in the United States, 2015-2016. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2021;10(2):75–82.
171. Yin JK, Heywood AE, Georgousakis M, King C, Chiu C, Isaacs D, et al. Systematic Review and Meta-analysis of Indirect Protection Afforded by Vaccinating Children Against Seasonal Influenza: Implications for Policy. *Clin Infect Dis*. 2017;65(5):719–28.
172. European Centre for Disease Prevention and Control. ECDC scientific advice on seasonal influenza vaccination of children and pregnant women [Internet]. Stockholm: ECDC; 2012. Accessible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/Seasonal%20influenza%20vaccination%20of%20children%20and%20pregnant%20women.pdf>
173. World Health Organization. Vaccines against influenza: WHO position paper – May 2022 [Internet]. 2022. Accesible en: <https://www.who.int/publications/i/item/who-wer9719>

174. Álvarez García FJ, Cilleruelo Ortega MJ, Álvarez Aldeán J, Garcés-Sánchez M, Garrote Llanos E, Iofrío de Arce A, et al. Immunisation schedule of the Pediatric Spanish Association: 2022 recommendations. *An Pediatr (Engl Ed)*. 2022;96(1):59.e1-59.e10.
175. Corporació Catalana de Mitjans Audiovisuals. Salut vacunarà de la grip els infants d'entre 6 mesos i 5 anys a partir de l'any que ve [Internet]. Accesible en: <https://www.ccma.cat/324/salut-vacunara-de-la-grip-els-infants-dentre-6-mesos-i-5-anys-a-partir-de-lany-que-ve/noticia/3191455/>
176. Tagarro A, Cruz-Cañete M, Otheo E, Launes C, Couceiro JA, Pérez C, et al. Oseltamivir para el tratamiento de la gripe en niños y adolescentes. *An Pediatr (Barc)*. 2019;90(5):317.e1-317.e8.
177. Walsh PS, Schnadower D, Zhang Y, Ramgopal S, Shah SS, Wilson PM. Association of Early Oseltamivir With Improved Outcomes in Hospitalized Children With Influenza, 2007-2020. *JAMA Pediatr*. 2022;176(11):e223261.
178. Chatterjee A, Mavunda K, Krilov LR. Current State of Respiratory Syncytial Virus Disease and Management. *Infect Dis Ther*. 2021;10(Suppl 1):5–16.
179. Kumar P, Srivastava M. Prophylactic and therapeutic approaches for human metapneumovirus. *Virusdisease*. 2018;29(4):434–44.
180. Wrotek A, Czajkowska M, Jackowska T. Bacteremia in Children Hospitalized Due to Respiratory Syncytial Virus Infection. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1271:21–8.
181. Titus MO, Wright SW. Prevalence of serious bacterial infections in febrile infants with respiratory syncytial virus infection. *Pediatrics*. 2003;112(2):282–4.
182. Sprecher E, Chi G, Ozonoff A, Cox J, Patel N, Conroy K. Use of social psychology to improve adherence to national bronchiolitis guidelines. *Pediatrics*. 2019;143(1):e20174156.

ANEXO

ANEXO

1. OTRAS PUBLICACIONES

A continuación, se cita la producción científica en la que ha participado la doctoranda siguiendo misma línea de investigación de la presente tesis doctoral:

1. Andrés C, Guasch E, Piñana M, Fernandes P, Gimferrer L, Easo D van, et al. Recombinant CV-A6 strains related to hand-foot-mouth disease and herpangina at primary care centers (Barcelona, Spain). *Future Microbiol.* 2019;14(6):499–507.
2. Andrés C, **Vila J**, Gimferrer L, Piñana M, Esperalba J, Codina MG, et al. Surveillance of enteroviruses from paediatric patients attended at a tertiary hospital in Catalonia from 2014 to 2017. *J Clin Virol.* 2019;110:29–35.
3. Andrés C, Piñana M, **Vila J**, Esperalba J, Trejo-Zahínos J, Codina MG, et al. The high genetic similarity between rhinoviruses and enteroviruses remains as a pitfall for molecular diagnostic tools: A three-year overview. *Infect Genet Evol.* 2019;75:103996.
4. Gimferrer L, **Vila J**, Piñana M, Andrés C, Rodrigo-Pendás JA, Peremiquel-Trillas P, et al. Virological surveillance of human respiratory syncytial virus A and B at a tertiary hospital in Catalonia (Spain) during five consecutive seasons (2013-2018). *Future Microbiol.* 2019;14:373–81.
5. Piñana M, **Vila J**, Maldonado C, Galano-Frutos JJ, Valls M, Sancho J, et al. Insights into immune evasion of human metapneumovirus: novel 180- and 111-nucleotide duplications within viral G gene throughout 2014-2017 seasons in Barcelona, Spain. *J Clin Virol.* 2020;132:104590.
6. Benschop KS, Albert J, Anton A, Andrés C, Aranzamendi M, Armannsdóttir B, et al. Re-emergence of enterovirus D68 in Europe after easing the COVID-19 lockdown, September 2021. *Euro Surveill.* 2021;26(45):pii=2100998.

7. Guitart C, Bobillo-Perez S, Alejandre C, Armero G, Launes C, Cambra FJ, et al. Bronchiolitis, epidemiological changes during the SARS-CoV-2 pandemic. *BMC Infect Dis.* 2022;22(1):84.
8. Andres C, **Vila J**, Creus-Costa A, Pinana M, Gonzalez-Sanchez A, Esperalba J, et al. Enterovirus D68 in Hospitalized Children, Barcelona, Spain, 2014–2021. *Emerg Infect Dis.* 2022;28(7):1327–31.
9. Coma E, **Vila J**, Méndez-boo L, Antón A. Respiratory Syncytial Virus Infections in Young Children Presenting to Primary Care in Catalonia During the COVID-19 Pandemic. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2022;11(2):69–72.
10. Piñana M, **Vila J**, Andrés C, Saura J, González-Sánchez A, Creus-Costa A, et al. Molecular characterization and clinical impact of human bocavirus at a tertiary hospital in Barcelona (Catalonia, Spain) during the 2014-2017 seasons. *Infection.* 2022;1–9.