



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

FACULTAD DE MEDICINA

**INFECCIÓN POR VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL.
Aportaciones de una década.**

Tesis Doctoral

Alfredo Blanco del Val

Valladolid

2010



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

ÁREA DE MICROBIOLOGÍA

D. JOSÉ MARÍA EIROS BOUZA, PROFESOR TITULAR DE MICROBIOLOGÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID, Y

D. RAÚL ORTIZ DE LEJARAZU, PROFESOR TITULAR DE MICROBIOLOGÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

CERTIFICAN:

Que el trabajo **“Infecciones por virus respiratorio sincitial. Aportaciones de una década”**, del que es autor D. Alfredo Blanco del Val, ha sido realizado bajo nuestra dirección considerando que reúne los méritos suficientes y la originalidad necesaria para ser presentado como Tesis Doctoral.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firman el presente escrito en Valladolid a 20 de Diciembre de dos mil diez.

Prof. J.M. Eiros Bouza

Prof. R. Ortiz de Lejarazu

A mis padres, María Ludivina y Santiago.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a aquellas personas que verdaderamente han hecho posible la realización de este trabajo de investigación para optar al grado de Doctor.

Al Dr. José María Eiros Bouza, director del trabajo, por su constante apoyo y dirección en el desarrollo de la tesis, por su generosa disponibilidad y continua supervisión, ya que sin su apoyo no hubiese sido posible que este estudio hubiese visto la luz.

Al Dr. Raúl Ortiz de Lejarazu, director de esta tesis, por su constante atención y aporte de ideas que ha permitido que se fraguase este trabajo.

Al Dr. Agustín Mayo Íscar, por su disponibilidad y su valiosa ayuda en la realización del estudio estadístico de los resultados.

Al Dr. Alfredo Blanco Quirós, por su gran ejemplo y estímulo a lo largo de mi vida profesional, como médico y pediatra.

A todos ellos mi más profundo agradecimiento.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	8
1. Reseña histórica	9
II. ESTADO ACTUAL	10
1. Descripción	10
1.1. Clasificación taxonómica	10
1.2. Características	10
1.3. Cultivo en laboratorio	12
1.4. Variación antigénica	14
1.5. Infección en modelo animal	15
2. Epidemiología	18
2.1. Distribución geográfica	18
2.2. Variación estacional	18
2.3. Morbilidad y mortalidad	21
2.4. Adquisición de la infección	22
2.5. Prevalencia e incidencia	24
2.6. Niños con factores predisponentes	25
2.6.1. Prematuridad (≤ 35 sem)	25
2.6.2. Broncodisplasia pulmonar	26
2.7. Situación en España	27
2.8. Relación VRS-Metaneumovirus.....	28
3. Patogenia	31
3.1. Teorías	33
3.2. Inmunidad	36
3.3. Bronquiolitis VRS y patogénesis del asma en la infancia	43
4. Manifestaciones clínicas	49
4.1. Infecciones en niños pequeños	49

4.2.	Infecciones en niños mayores y adultos	51
4.3.	Manifestaciones poco frecuentes	53
4.4.	Infecciones hospitalarias	53
4.5.	Complicaciones	54
5.	Métodos diagnósticos	59
5.1.	Inmunofluorescencia	61
5.2.	Enzimoimmunoensayo	61
5.3.	Reacción de fijación del complemento	62
5.4.	Reacción en cadena de la polimerasa	63
6.	Tratamiento	64
6.1.	Tratamiento de soporte y de la obstrucción de la vía aérea..	64
6.1.1.	Soporte hidroelectrolítico y suplemento de oxígeno....	64
6.1.2.	Manejo de la obstrucción de la vía respiratoria	66
6.2.	Tratamiento preventivo	74
6.2.1.	Inmunoterapia	74
6.2.2.	Vacunación	76
III.	OBJETIVOS	79
1.	Objetivos Generales	79
2.	Objetivos Específicos	79
IV.	MATERIAL Y MÉTODOS	80
1.	Material	80
2.	Medio	80
3.	Diseño del estudio	87
3.1.	Primera parte	87
3.2.	Segunda parte	88
4.	Tratamiento informático de los datos	89

V. RESULTADOS	91
1. Resultados de la actualización de los casos VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid durante el periodo 1990-2000	91
1.1. Pacientes	91
1.1.1. Distribución etaria	91
1.1.2. Distribución por género	94
1.1.3. Procedencia clínica	97
1.2. Distribución temporal	100
1.3. Clínica asociada a la infección	114
1.4. Métodos diagnósticos	117
1.4.1. Resultados del cultivo celular	121
1.4.2. Resultados de la detección de antígenos	122
1.4.3. Resultados del diagnóstico indirecto	125
2. Resultados del muestreo aleatorio de los casos VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid durante el periodo 1990-2000	126
2.1. Pacientes	126
2.2. Distribución temporal	138
2.3. Clínica asociada a la infección	139
2.4. Métodos diagnósticos	145
2.5. Tratamiento de la infección	147
VI. DISCUSIÓN	152
VII. CONCLUSIONES	164
VIII. BIBLIOGRAFÍA	166

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones víricas del tracto respiratorio son una causa importante de morbilidad y mortalidad, en especial durante la infancia¹. El virus respiratorio sincitial (VRS) es la principal causa de patología de las vías aéreas inferiores en niños menores de 2 años²⁻⁶, siendo la causa del 70% de los episodios de bronquiolitis, especialmente en sus formas graves⁷. Su diseminación es tan eficaz, que casi la totalidad de la población ha sido infectada por el VRS en los primeros años de la vida. Sin embargo, la inmunidad tras la primoinfección por VRS no es completa, pudiendo observarse con frecuencia reinfecciones a lo largo de la vida que pueden afectar también a niños mayores y adultos, aunque en estas poblaciones se afectan con más frecuencia únicamente las vías respiratorias altas⁸.

Aunque las infecciones potencialmente mortales sólo aparecen en los primeros dos años de vida, las infecciones por VRS contribuyen en una proporción apreciable a la morbilidad por enfermedades agudas de las vías respiratorias superiores y a los agravamientos del asma y bronquitis en niños mayores y población adulta, papel que se ha sugerido comparable con el virus de la gripe fuera de las epidemias⁸.

Entre las poblaciones con riesgo elevado de contraer una infección grave están los individuos con enfermedades cardiorrespiratorias de base, las personas inmunodeprimidas y los ancianos, tanto los que viven en instituciones cerradas como los que viven en sus hogares. En el grupo de los lactantes, la infección por VRS es más prevalente y grave en los niños prematuros, los niños con bajo peso al nacimiento y aquellos niños con trastornos cardiopulmonares congénitos. Así mismo, las infecciones por VRS hacen que aumenten los gastos hospitalarios por ingresos de lactantes infectados por el dicho virus⁹.

Últimamente existe una preocupación creciente entre médicos e investigadores acerca de las implicaciones que puede tener el padecimiento de esta enfermedad durante la infancia en el desarrollo de posteriores problemas pulmonares crónicos a lo largo de la edad adulta, en especial en lo referente al desarrollo de asma bronquial^{10,11} y la posibilidad de disminuir la incidencia de éste controlando las infecciones causadas por el VRS. En la actualidad la modalidad de diagnóstico se ha ampliado e incluye test rápidos fiables que pueden ser incorporados a la rutina hospitalaria de la mayoría de los centros.

1. Reseña histórica

El VRS, principal agente de los brotes de bronquiolitis que se producen en invierno o primavera, fue descubierto en 1956, cuando *Morris et al.*¹² aislaron un nuevo virus de chimpancé en un grupo de primates que estaba resfriado.

En ese momento no se sabía que ese agente también era capaz de causar infecciones respiratorias en seres humanos, aunque ya existía la sospecha, pues un empleado del laboratorio desarrolló anticuerpos frente el virus aislado. Más adelante, *Chanock et al.*¹³ consiguieron aislar en dos niños organismos idénticos al agente causal de la coriza del chimpancé.

Estos patógenos se recogieron mediante frotis de la boca de un niño con bronconeumonía (cepa de Long) y de un niño con laringotraqueobronquitis (cepa de Snyder). Posteriormente, *Chanock y Finberg*¹⁴, detectaron un aumento en los niveles de anticuerpos neutralizantes específicos frente el agente de la coriza del chimpancé en niños con patologías respiratorias; así mismo, vieron cómo dicho anticuerpo estaba presente en la mayoría de los niños que alcanzaban la edad escolar.

De ésta forma se vio que el nombre de agente de la coriza del chimpancé no era adecuado para este virus, por lo que desde entonces se le llamó virus respiratorio sincitial en referencia a sus manifestaciones clínicas y de laboratorio. Posteriormente se realizaron múltiples estudios que avalaron el actual papel del VRS como principal agente causal de brotes de patología respiratoria de vías aéreas inferiores en la población infantil ¹⁵⁻²⁵.

II. ESTADO ACTUAL

1. Descripción

1.1. Clasificación taxonómica

El VRS es un virus ARNm que pertenece a la familia *Paramyxoviridae* que consta de cuatro géneros, de los cuales tres forman la subfamilia *Paramyxovirinae* compuesta por los *Paramyxovirus*, que contiene los virus parainfluenza humana tipos 1 y 3; los *Rubulavirus*, que contienen los virus de la parotiditis y parainfluenza humana tipos 2 y 4, entre otros; y los *Morbilivirus*, representados por el virus del sarampión.

La especie VRS pertenece al cuarto género, *Pneumovirus*, de la subfamilia *Pneumovirinae*. Dentro de ese mismo grupo se encuentran los virus de la neumonía murina, similares en morfología y biología, el VRS bovino, el VRS ovino, el VRS caprino y el virus de la rinoatraqueitis de los pavos. Entre las propiedades características del VRS están la cantidad y el orden de los genes, así como la ausencia de actividad de hemaglutinina y neuraminidasa ²⁶.

1.2. Características

El VRS es un virus de mediano tamaño (120-300 nm) con envoltura. Su genoma consiste en una única cadena simple no segmentada de ARN de sentido negativo asociada a proteínas virales en toda su longitud formando el nucleocápside helicoidal. El hecho de que el VRS

sea no segmentado se considera importante ya que no se va a realizar reordenamiento genético con otros virus, como sucede con los virus gripales²⁷.

La envoltura viral es una capa bilipídica derivada de la membrana plasmática de las células huésped y tiene aspecto de cardo, con espículas superficiales formadas por glucoproteínas transmembrana de unos 11-12 nm de longitud y separadas por 6-10 nm. Utilizando microscopía electrónica de cortes ultrafinos de tejidos infectados, se observa al VRS como una partícula pleomorfa redonda o filamentosa que brota de la membrana citoplasmática celular, rodeada por proyecciones glucoprotéicas²⁸.

Hasta el momento se han podido determinar 10 proteínas virales esenciales y se ha descrito la secuencia completa de los genes de la cepa A2^{9,26,29}. El ARN viral consta de 15.222 nucleótidos transcritos en 10 ARN-mensajeros poliadenilados monocistrónicos, cada uno de los cuales codifica una cadena polipeptídica importante. Tres de las proteínas -N, P y L- se asocian con el nucleocápside. Tres de las cinco asociadas con la envoltura -F, G y SH- son proteínas de superficie transmembrana glucosiladas, y las otras dos -M y M2- son proteínas no glucosiladas de la matriz. Las dos proteínas restantes, NS1 y NS2, son proteínas no estructurales del virión.

Las dos proteínas de superficie transmembrana glucosiladas F (fusión) y G (fijación), parecen integrar la capacidad infecciosa e interaccionan con el sistema inmune. La proteína F, tiene una estructura similar con la proteína de fusión de los Paramyxovirus y consta de dos fragmentos unidos por puentes disulfuro (F1 y F2); inicia la penetración viral fusionando las membranas viral y celular y favorece la diseminación del virus uniendo las células infectadas a las adyacentes no infectadas para formar los sincitios característicos. Sin embargo, la fusión eficiente

parece necesitar de la co-expresión de las tres proteínas de superficie F, G y SH³⁰. La proteína más grande, la G -posiblemente un glucosaminoglicano similar a la heparina- parece mediar en la fijación del virus a la célula huésped. Destacar que el VRS carece de actividad de hemaglutinina y neuraminidasa²⁶.

El VRS soporta bastante mal las variaciones de temperatura y pH. No tolera la congelación y descongelación lenta, perdiendo la capacidad infecciosa. Resiste mal el pH ácido, siendo su pH óptimo 7.5³¹. Al ser un virus cubierto, el VRS se inactiva con rapidez por la acción del éter, el cloroformo y diversos detergentes como el desoxicolato de sodio al 0.1%, el dodecilsulfato de sodio y el tritón X-10. El VRS se preserva mejor para su almacenamiento mediante la congelación instantánea por inmersión en un baño de alcohol y hielo seco, y en una mezcla de glicerina, sacarosa y virus³².

A temperatura ambiente, el VRS en las secreciones de los pacientes puede sobrevivir sobre superficies no porosas entre tres y treinta horas, en función del grado de humedad ambiental³³. Sobre superficies porosas, como la ropa o los pañuelos de papel, la supervivencia es menor, entorno a una hora. La capacidad infecciosa en las manos es variable de una persona a otra, pero suele ser inferior a una hora, aún así, algunos estudios lo destacan como un vehículo de importancia capital para la difusión de la infección sobretodo en el medio hospitalario. La presencia del VRS en el medio parece depender en parte de la humedad y en parte del tiempo de secado^{33,34}.

1.3. Cultivo en laboratorio

El VRS crece bien en diversas líneas celulares humanas y se puede adaptar a otras varias. Para su aislamiento primario se suelen preferir células heteroploides humanas, cómo las células Hep-2, HeLa y las células Vero. Otras líneas que se pueden utilizar, aunque menos

sensibles, son las células de riñón humano, las células amnióticas y los fibroblastos diploides, a parte de las células de riñón de mono^{16,35}. La sensibilidad de todas estas líneas celulares para el crecimiento del VRS es variable y se debe controlar el proceso.

La presencia de VRS en cultivos celulares infectados se detecta por el aspecto sincitial característico que presenta la muestra, pero el grado de formación de sincitio depende del tipo de cultivo celular, del espesor de la lámina de células, del medio, de la cepa vírica, de la multiplicidad de la infección y de la adaptación al laboratorio. Está demostrado que la inducción del sincitio y la cantidad de proteína de fusión también dependen de la presencia de Ca^{++} en el medio de cultivo para Hep-2³⁶.

Al aislar el VRS de forma primaria en cultivos celulares heteroploides sensibles, a veces sólo se detecta el efecto citopatogénico característico del VRS después de 3-5 días³¹. Con las cepas de VRS adaptadas a cultivos de tejido, los nuevos virus pueden detectarse a las 10-12 horas de la inoculación, pero los sincitios típicos no se desarrollan hasta 10-24 horas después. Los sincitios progresan hasta que el tapiz celular está totalmente destruido, lo que suele ocurrir en los siguientes 4 días.

En torno al 90% del inóculo es absorbido en las 2 horas siguientes de la inoculación por las líneas celulares sensibles estándar. Mediante inmunofluorescencia se pueden detectar las glucoproteínas de superficie viral a las 7-10 horas de la inoculación³⁸. Después es posible demostrar la presencia de virus libres en el medio de cultivo, pero hasta un 90% de los virus permanecen infectando las células. Se pueden producir infecciones persistentes cuando se somete la muestra a replicaciones virales repetidas³⁹. Si el virus es sometido a sucesivos pases celulares, éste puede causar infecciones persistentes, disminuyendo la cantidad de virus libre en el medio de cultivo y perder el efecto citopático característico. También pueden producirse partículas defectuosas,

apareciendo virus menos infecciosos y una menor cantidad de hallazgos citopáticos.

1.4. Variación antigénica

La utilización de anticuerpos monoclonales permitió detectar diferencias entre cepas virales, por lo que se pudo dividir al VRS en dos grupos principales, A y B, con subtipos dentro de cada grupo ⁴⁰⁻⁴⁶. El grupo A está representado por la cepa A2 y el grupo B por la cepa 18537. Se puede decir en general que la relación antigénica entre los grupos A y B reside en las proteínas G, F, SH y NS²⁶.

La heterogenicidad de las cepas es mayor cuando se analizan desde el punto de vista genético. La proteína de fijación G, presenta la mayor variabilidad genética, seguida de la proteína SH. Esto se refleja en la relación antigénica relativa de las proteínas G de cada grupo, de apenas 1-7%, comparada con el 50% para las proteínas F. Además, es notable la diversidad de los aminoácidos de las proteínas G dentro de cada grupo, entre el 12% para el grupo B y el 20% para el grupo A. Las proteínas F, N, P, M2, NS1 y NS2 están más conservadas, con una homología de aminoácidos de más del 87% y una homología de nucleótidos mayor del 75%. La respuesta de anticuerpos frente a la infección primaria por VRS presenta una reactividad cruzada característica entre las proteínas F de los grupos A y B, mientras que la respuesta inmune frente a la proteína G es altamente específica de grupo e incluso de subgrupo⁴⁷.

Las cepas de ambos grupos circulan al mismo tiempo durante los brotes infecciosos, pero varían las proporciones entre los grupos A y B, al igual que entre los subtipos^{40,42,44,45,48}. Los análisis antigénicos y moleculares de las relaciones entre las cepas que circulan al mismo tiempo en un mismo medio y en varias regiones del mundo señalan que las cepas dentro de cada grupo tienen diversidad genética. Incluso en

regiones geográficas muy distintas, las cepas que circulan juntas en un mismo brote pueden tener genotipos similares y linajes evolutivos paralelos.

Los análisis de las proteínas G de cepas obtenidas durante décadas en distintas regiones sugieren que la presión que ejerce la inmunidad de la población podría desempeñar un papel importante en la lenta acumulación de sustituciones de aminoácidos que producen la evolución de las cepas^{49,50}. Otros estudios han demostrado que en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica parece estar presente el VRS durante todo el año y puede tener importancia en el desarrollo de las exacerbaciones asmáticas y bronquíticas⁵². Así mismo, en el continente africano el VRS está presente casi todo el año en la población infantil infectada por VIH^{51,52}. Cuando diversos factores, entre ellos los climáticos, son favorables, los brotes epidémicos aparecen en la comunidad probablemente desde estos reservorios⁵³.

Algunos estudios señalan una mayor gravedad en las infecciones asociadas al VRS del grupo A, al menos en lactantes, si bien las implicaciones epidemiológicas y clínicas de las diferentes secuencias nucleotídicas no han sido por el momento aclaradas convenientemente⁴⁷.

1.5. Infección en modelo animal

El VRS puede infectar de forma experimental una amplia gama de especies animales⁵⁴, pero la infección natural por cepas de VRS humano se limita, por regla general, a los seres humanos y a los chimpancés. Las cepas bovinas de VRS (BVRS) se han obtenido de vacas con enfermedad respiratoria, por lo que proporcionan un posible modelo animal natural para el estudio de la infección por VRS humano; se ha estudiado el BVRS por su potencial en el desarrollo de una vacuna humana^{55,56}. El BVRS presenta una estrecha relación antigénica y

genética con el VRS humano⁵⁷. Los anticuerpos dirigidos frente las proteínas F, N, P y M de cualquiera de estos virus, son capaces de reconocer el virus heterólogo. Las cepas de BVRS también parecen estar compuestas por dos subgrupos antigénicos principales⁵⁸. Además, se han recuperado cepas ovinas y caprinas de VRS, pero el análisis genético sugiere que estas cepas muestran suficiente relación con el BVRS como para pensar que no son virus similares con huéspedes específicos, sino subgrupos antigénicos^{59,60}.

El desarrollo de un modelo animal para la infección infantil por VRS es motivo de discusión y problemas⁵⁴. Como regla general, los modelos animales no desarrollan la infección de vías respiratorias bajas con sintomatología similar a la que se produce en humanos. Se ha conseguido la infección de las vías respiratorias superiores en varios modelos animales pero, salvo en el chimpancé, la replicación del VRS en el pulmón es escasa o limitada y las anomalías pulmonares por lo general son imperceptibles o están ausentes. Los chimpancés infectados por el virus pueden desarrollar la enfermedad respiratoria y eliminar el virus, pero no suelen presentar un compromiso de las vías respiratorias inferiores similar a la desarrollada en los niños, y suelen mostrar escasa permisividad a la replicación del VRS ante la exposición al virus^{12,61}. Se ha causado neumonía en el mono *cebus*: el mono verde africano ha sido utilizado como modelo para el incremento de la afectación pulmonar inducida por la vacuna VRS inactivada por fomaldehído⁶². Se ha desarrollado un posible modelo en corderos tras la exposición a cepas ovinas, bovinas o humanas del VRS⁶³⁻⁶⁵. Así mismo, se ha asociado la infección por VRS en hurones con ciertos cambios histopatológicos de las vías respiratorias superiores e inferiores.

También se han utilizado ciertos roedores, ratas y ratones del algodón, pudiendo observarse, en estos modelos, como la infección por VRS causa importantes cambios inflamatorios en el pulmón, que

evoluciona a una inflamación crónica de las vías aéreas y a una hiperreactividad de éstas.⁶⁶

Es posible que otros animales sean susceptibles a la infección VRS sin presentar síntomas, entre ellos algunos primates, cobayas, armiños y chinchillas.

2. Epidemiología

2.1. Distribución geográfica

En todas las regiones geográficas estudiadas a nivel mundial se han hallado evidencias de infección por VRS. Incluso en condiciones climáticas muy diferentes, la infección por VRS parece tener características similares y la infección primaria aparece en niños de muy corta edad^{4,6,24,25,67,68}. Se puede decir que las infecciones por VRS tienen una distribución mundial.

2.2. Variación estacional

Los brotes de infección por VRS son anuales⁶⁹. Es el único agente respiratorio viral, junto con el virus de la gripe, del que se sabe con certeza que produce una cantidad considerable de infecciones cada año^{4-6,70}.

La temporada regional de VRS viene determinada por el ecuador geográfico. En islas ecuatoriales (ej. Singapur, Fiji, Taiwán, Hawaii), la infección ocurre durante todo el año, con algún aumento en la estación lluviosa, diseminándose el virus en estas áreas de Norte a Sur⁷¹. En las regiones al Sur del ecuador (Suráfrica, Argentina y Brasil) las epidemias ocurren durante la estación fría y seca⁷¹⁻⁷³. Al Norte del ecuador, en áreas tropicales y subtropicales (ej. India, Gambia y Kuwait), los brotes por VRS son más frecuentes durante la estación fría y lluviosa^{71,74}. En regiones templadas de ambos lados del ecuador, las epidemias por VRS suelen ocurrir en los meses de invierno y primavera^{71,75-77}.

En los Estados Unidos los procesos epidémicos suelen acontecer normalmente a intervalos regulares, por regla general, en invierno o primavera. En algunas regiones como en Washington D.C. y en Carolina del Norte, se observan ciclos "largos" y "cortos", alternando las

apariciones en primavera e invierno^{2,4,5,78}. En otras regiones con climas más fríos, el VRS suele aparecer a intervalos regulares en el invierno con picos de frecuencia entre Enero y Marzo⁷⁹. Cualquiera que sea la región, el VRS parece presentar un patrón inusualmente predecible y regular⁸⁰. En Estados Unidos se demostró entre 1992 y 1997 que la mayor actividad comenzaba en el mes de Noviembre, con picos en Enero y Febrero, en la mayoría de las regiones, y continuaba hasta Abril o mediados de Mayo, con una duración promedio de 22 semanas⁷⁹. En el Sudeste de los Estados Unidos el pico de actividad del VRS se observó que solía aparecer 2-3 meses antes. En Florida y parte de Tennessee, el VRS estaba presente durante casi todo el año, siendo informado 7-9 meses al año, con picos similares a los observados en otras regiones cercanas al ecuador⁸¹.

La estacionalidad del VRS en Europa es relativamente consistente. Los picos de infección ocurren en invierno (Diciembre/Enero) en Gran Bretaña, Bélgica, Alemania y Países Bajos y de Enero a Febrero en Escandinavia⁸²⁻⁸⁵. En Grecia, con clima más templado, los picos son en Febrero/Marzo⁷⁶. En Suecia se ha visto un patrón bianual, durante años alternos de alta prevalencia, la estación VRS se prolonga de Noviembre a Marzo con picos en Enero; en los años de baja prevalencia los picos se retrasan hasta Marzo o Abril⁷⁵. Se puede decir en general que los brotes empiezan en Octubre en los países bálticos⁸⁶⁻⁸⁹ para extenderse durante los siguientes 3 meses hacia el Oeste^{90,91}, Norte⁹² y Sur⁹³⁻⁹⁵, llegando a los países mediterráneos en el mes de Enero⁹⁶⁻¹⁰⁰. Muchos países en Europa han creado sistemas regulares de vigilancia para detectar epidemias próximas y para identificar los patógenos virales responsables. Recalcar que como en Norte América las epidemias europeas sólo ocurren de Octubre a Enero.

En África las epidemias comienzan en la costa surafricana en Enero¹⁰¹ y tiende a desplazarse hacia el Norte en los 6 meses siguientes¹⁰²⁻¹⁰⁴.

Estudios realizados en Suráfrica, Uganda y Nigeria, recogen casos de VRS a lo largo de todo el año^{105,106}.

En Asia y los países del Pacífico la temporada VRS se inicia en Marzo en las áreas ecuatoriales de Singapur e Indonesia y en los siguientes meses se disemina a lo largo del ecuador¹⁰⁷. Al Sur del ecuador aparece en Marzo o Abril en Australia¹⁰⁸. Al Norte aparece en el en Hong Kong en el mes de Abril¹⁰⁹ extendiéndose por el pacífico en sentido de las agujas del reloj¹¹⁰. En el subcontinente Indio la epidemia de VRS progresa de Norte a Sur apareciendo en las regiones del Sur en los meses de Julio o Agosto, en Agosto o Septiembre en Calcuta, en Nueva Delhi en Septiembre, en Rawalpindi en Noviembre o Diciembre y en Chandigarh en Enero¹¹¹⁻¹¹⁴. La estacionalidad del VRS en Japón se acerca a la observada en Norte América. El pico anual de incidencia VRS en Asia suele ocurrir en los meses de invierno (Diciembre)¹¹⁵.

En resumen, se puede decir que la estacionalidad regional de la infección por VRS está marcada por el ecuador, asociándose la enfermedad con la estación lluviosa en el Norte y con la seca en el Sur, pareciendo corresponderse las variaciones de temperatura y humedad con la diseminación del VRS¹¹⁶. Los brotes epidémicos suelen empezar en áreas costeras o rodeadas de agua y progresivamente se desplazan a zonas interiores en los meses posteriores. Los brotes epidémicos se agrupan en diferentes regiones de Octubre a Mayo, mientras que son raros en los meses de Junio a Septiembre.

Aunque parece presentar un patrón de diseminación epidemiológica entre los distintos continentes, la aparición del VRS no parece ser el resultado de contagio entre áreas geográficas próximas. Estudios realizados en Europa¹¹⁷, Norte América¹¹⁸ y África¹¹⁹ han mostrado que cepas similares de VRS aparecen de forma simultánea en distintas localizaciones geográficas dentro de estas áreas.

La estacionalidad de las epidemias de VRS puede estar en parte causada por un comportamiento clima-dependiente, donde el hacinamiento puede estar motivado por factores climáticos como el invierno en regiones templadas o el monzón en regiones tropicales. Dicho hacinamiento, las familias numerosas, los partos múltiples, las viviendas de pequeño tamaño y el cuidado diario facilitan la exposición intensa al virus y son factores de riesgo para la infección grave por VRS^{120.121}.

2.3. Morbilidad y mortalidad

La diseminación de la infección VRS dentro de una comunidad produce ramificaciones tan características que a menudo la presencia de VRS puede deducirse sin necesidad de un diagnóstico viral específico. El VRS se caracteriza por causar un aumento de la cantidad de bronquitis y neumonía pediátrica en la comunidad y un incremento de la cantidad de ingresos hospitalarios de niños pequeños con patología aguda de las vías respiratorias bajas^{5,24,78,79}.

Los lactantes menores de 6 meses tienden a padecer las infecciones más graves. El riesgo de hospitalización por VRS depende de los factores que están relacionados directamente con el huésped, como la prematuridad (≤ 35 semanas), la neumopatía crónica (displasia broncopulmonar o enfermedad pulmonar crónica o fibrosis quística)¹²², cardiopatía congénita¹²³, la inmunodeficiencia, la ancianidad¹²⁴; y también están relacionados con los factores específicos medioambientales como el hacinamiento y la exposición pasiva al humo del tabaco¹¹⁶.

La mortalidad causada por la infección VRS es baja cuando ésta afecta a niños previamente sanos; de todas formas las tasas varían considerablemente entre los diferentes estudios (1-2%)¹²⁵. En los

lactantes con bronquiolitis modera-grave, que requieren ingreso hospitalario, la mortalidad oscila entre el 1-7%, según series. Sin embargo, es mucho mayor cuando la padecen niños con enfermedades anteriormente mencionadas, aumentando hasta valores que varían entre un 15% en niños inmunodeprimidos por tratamiento quimioterápico y un 40% en los que presentan inmunodeficiencias primarias¹²⁶.

El limitado número de estudios que recogen datos sobre la mortalidad causada por la infección VRS sólo permite hacer comparaciones entre los países desarrollados y los que están en vías de desarrollo, en dichos estudios se observó que se encuentra una mortalidad significativamente más alta en los países en vías de desarrollo, aunque ésto no es sorprendente, si que es importante por el hecho de que la mortalidad sea extremadamente más baja en los países desarrollados¹²⁷.

2.4. Adquisición de la infección

El contacto con el virus se produce a una temprana edad; casi todos los niños se han infectado en los primeros meses de vida. Todos los recién nacidos adquieren pasivamente los anticuerpos neutralizantes específicos y anticuerpos contra las principales glucoproteínas de superficie del virus a través de su madre. Si no ocurre la infección natural por VRS, los niveles de anticuerpos descienden en los siguientes 2-7 meses hasta ser indetectables⁶. Pero hay que destacar que en torno a los 2 años de edad, el 95% de los niños, incluso más, ya son seropositivos.

La diseminación del VRS puede estar asociada con el descenso de la inmunidad en la población, particularmente entre las madres, lo que lleva a un aumento de la susceptibilidad de sus recién nacidos. Si las concentraciones maternas de anticuerpos durante la parte final de la epidemia VRS son altos, los niños nacidos en ese periodo estarán

protegidos, disminuyendo la enfermedad por VRS en la población susceptible. Los niños concebidos al final de la estación templada de VRS pueden tener bajas concentraciones de anticuerpos por una disminución natural anual en los niveles maternos de anticuerpos frente al VRS; cuando nacen estos niños estarán dentro de la población susceptible a ser infectados por el VRS¹²⁸.

En población adulta no inmunodeprimida, el VRS es uno de los tres patógenos más frecuentes causante de neumonía extrahospitalaria¹²⁹. En un artículo reciente de *Hall et al.*¹³⁰, se sugiere la reinfección por VRS en trabajadores adultos sanos como una causa infravalorada de morbilidad; en la mayoría de los adultos la infección VRS afecta a las vías respiratorias altas y en menor medida a las vías respiratorias bajas. Respecto a las características clínicas de la infección VRS en el adulto, las comparte con la infección por virus gripal aunque la diferencia está en la afectación de oídos y senos, la tos productiva y la prolongada dificultad respiratoria. El absentismo laboral ocurre en un 38% de los adultos infectados por VRS y en un 66% de los adultos infectados con el virus de la gripe, aunque existe diferencia estadísticamente significativa en la mayor duración de la enfermedad en los afectados por VRS frente los afectados por otros virus¹³¹.

En la población anciana cada vez se concede más importancia al VRS como causa de infección del tracto respiratorio. Los brotes de VRS en residencias de ancianos sugieren que el 10-50% de las infecciones pueden complicarse con neumonía, en un 10% de casos con consecuencias fatales. La afectación del tracto respiratorio inferior parece ser más frecuente entre ancianos que acuden a centros de día; a este aumento en la susceptibilidad de la afectación del tracto respiratorio inferior ayudan la presencia de patologías crónicas respiratorias (EPOC) y cardíacas (cardiopatía congestiva crónica), la

disminución de las defensas inmunitarias relacionadas con la edad, así como la debilidad aumentada asociada con la edad avanzada¹³².

2.5. Prevalencia e incidencia

El VRS es el principal agente aislado en niños pequeños con neumonía y bronquiolitis¹³³. Durante el periodo pico de una epidemia se puede aislar el VRS hasta en el 89% de los niños pequeños ingresados en hospitales con patología aguda de vías respiratorias bajas³¹ y rara vez se aísla en niños sin patología respiratoria. Se calcula que entre el 11 y el 19% de los niños menores de un año enfermarán de bronquiolitis y de ellos un 15% requerirán hospitalización¹³⁴.

A partir de los estudios realizados en Washington D.C. por *Parrot et al.*^{2,5,6}, se estimó que la mitad de los niños seguidos de forma longitudinal se infectaron en la primera epidemia de VRS y que casi todos se habían infectado tras haber vivido dos epidemias de VRS. En el 40% de las primeras infecciones se vio que desarrollaban neumonía con fiebre.

La expresión de la enfermedad causada por el VRS parece estar relacionada con la edad, el sexo y los factores socioeconómicos (hacinamiento, exposición pasiva al humo del tabaco). La patología más grave se observa en los niños más pequeños.

Los varones parecen tener mayor incidencia de la enfermedad de vías respiratorias inferiores, lo que viene avalado por una mayor tasa de ingreso en varones que en mujeres^{6,37}.

Una proporción considerable de los niños ingresados provienen de regiones con condiciones socioeconómicas más bajas^{4,78}.

Sin embargo el sexo y los factores socioeconómicos no parecen influir sobre la tasa de infección del agente, sino sobre la gravedad de la infección⁷⁸.

Los niños no alimentados al pecho parecen tener un mayor riesgo de desarrollar infecciones severas por VRS, aunque no se sabe si estos niños provienen de estratos socioeconómicos bajos o si algún componente de la leche materna actúa como protector frente a la enfermedad¹³⁵.

Las infecciones reiteradas por VRS son frecuentes, no estando protegido ningún grupo etario frente a ellas.

2.6. Niños con factores predisponentes

Los niños con ciertas condiciones predisponentes tienen una mayor morbilidad y secuelas a largo plazo asociadas con enfermedad severa por infección VRS. En particular los niños pretérmino, así como los que padecen broncodisplasia pulmonar (BDP) y/o enfermedad pulmonar crónica (ECP), cardiopatías congénitas (fundamentalmente complejas, hemodinámicamente inestables o con hiperaflujo pulmonar) y los niños menores de 3-6 meses. Dado que estos niños necesitan con frecuencia cuidados en unidades especiales con ventilación asistida y hospitalización prolongada, los esfuerzos preventivos han de hacerse en la eliminación de la enfermedad por VRS en esta población de alto riesgo¹³⁶.

2.6.1. Prematuridad (\leq 35 semanas)

Uno de los factores fundamentales de riesgo entre estos niños es su inmaduro sistema inmunitario, estando afectadas tanto las funciones cuantitativas como cualitativas de los neutrófilos y del sistema del Complemento. Otro factor de riesgo lo representa la incompleta transferencia de anticuerpos desde la madre, viéndose que los niños

pretérminos tienen disminuidas las concentraciones séricas de IgG en comparación con las concentraciones de IgG de niños a término¹³⁷.

También es conocido que los pulmones del recién nacido pretérmino son inmaduros, tanto en su anatomía como en su fisiología; estando disminuido tanto el volumen pulmonar como su peso, así como el número de alveolos y los diámetros alveolares, que son más estrechos¹³⁸.

Los recién nacidos pretérmino hospitalizados con infección por VRS tienen un elevado riesgo de presentar complicaciones severas a lo largo de su estancia hospitalaria¹³⁹.

Las tasas de hospitalización son más altas durante el primer año de vida, no habiendo diferencias considerables entre las diferentes edades gestacionales, disminuyendo de forma progresiva en los años posteriores.

2.6.2. Broncodisplasia pulmonar

La incidencia de la broncodisplasia pulmonar varía entre 14-43% según los grupos estudiados¹⁴⁰. Las tasas más altas han sido observadas entre los niños con menor edad gestacional, siendo su incidencia inversamente proporcional al peso al nacimiento. *Boyce et al.*¹⁴¹ en un estudio en menores de 3 años encontró que la broncodisplasia pulmonar era un importante factor de riesgo para la hospitalización por VRS, la cual continuaba siendo alta durante los 2 años posteriores al nacimiento.

2.7. Situación en España

El Grupo de estudio de la Infección Respiratoria Infantil por VRS en España (IRIS) ha evaluado el impacto de este virus en una población que incluía a un 10% de los niños españoles prematuros de 32 ó menos semanas de gestación de distribución geográfica nacional, que no habían recibido tratamiento profiláctico.

En dos temporadas consecutivas desde 1998 al 2000, estos estudios epidemiológicos demostraron que la enfermedad grave por VRS en prematuros era la responsable de una elevada tasa de hospitalización (14.3 y 13.1% respectivamente) entre la población infantil. Estudios de vigilancia epidemiológica identificaron cohortes particulares de prematuros que tenían un mayor riesgo para reingresar por causa del VRS.

Los factores de riesgo relacionados con la rehospitalización fueron la edad gestacional por debajo de las 30 semanas, la edad cronológica menor de 3 meses al comienzo de la temporada de VRS, las enfermedades pulmonares crónicas, la convivencia con hermanos en edad escolar y la exposición pasiva al humo del tabaco^{142,143}.

En comparación con los datos de estudios Canadienses y Europeos^{144,145}, el grupo IRIS encontró que la infección severa por VRS se asociaba con un aumento relativo en la estancia hospitalaria (6 días) y con un mayor porcentaje de ingresos en unidades de cuidados intensivos (18-25%)^{142,143}.

En un estudio realizado por *García et al.*¹⁴⁶, en el que analizaban de forma prospectiva en niños menores de 24 meses ingresados por infección del tracto respiratorio inferior durante un periodo de siete temporadas epidemiológicas consecutivas, se vio que el VRS fue el virus

más detectado, y de ellos el subgrupo A y el subgrupo B, por delante de los virus Parainfluenza y los Adenovirus. Dentro de las formas clínicas de presentación, la que se observó con mayor frecuencia fue la bronquiolitis, sobre todo asociada al VRS, seguido de las bronquitis espásticas y las neumonías. El grupo de niños con aislamiento positivo para VRS presentaba algunas características clínicas que lo diferenciaban del resto de grupos con otros agentes etiológicos. Por un lado, estos niños tenían una edad inferior, con una media de 7.1 meses, por otro, la afectación clínica evaluada mediante la duración de la hospitalización y la puntuación de la escala clínica al ingreso, fue significativamente mayor en el grupo con VRS, con lo que los tiempos de hospitalización fueron más prolongados en estos niños.

En general se puede decir que en España se ha estimado que el VRS motiva entre 15.000 y 20.000 visitas de urgencia/año¹⁴⁷ y de 7.000 a 14.000 hospitalizaciones por año. La mortalidad a causa del VRS en los niños hospitalizados se calcula en 1-2%¹⁴⁸.

2.8. Relación VRS-Metapneumovirus

El metapneumovirus humano (hMPV) es un virus de reciente descripción, perteneciente a la familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Pneumovirinae* (al igual que el VRS), género *Metapneumovirus*. Fue descrito por primera vez en Holanda por *Van der Hoogen*¹⁴⁹, en niños con infección del tracto respiratorio, pero se estima que este virus circula en la población humana desde hace más de 40 años. Posiblemente la dificultad para aislar este tipo de virus en cultivos celulares ha retrasado la identificación de este patógeno frecuente en las infecciones respiratorias infantiles. Desde la introducción de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en aspirado nasofaríngeo se han empezado a detectar las infecciones por este virus tanto en adultos como en niños¹⁵⁰⁻¹⁵².

El hMPV es un virus ARN de características similares al VRS, con el que comparte similitudes morfológicas, de capacidad infectiva y un espectro de patología superponible.

La infección por hMPV tiene una distribución estacional similar a la del VRS, con picos en invierno y primavera, aunque parece tener una distribución temporal más larga.

El hMPV está considerado como la segunda causa más frecuente de infección viral del tracto respiratorio bajo en niños¹⁵³. Las características clínicas de las infecciones por el hMPV en diversos estudios coinciden en que fundamentalmente ocasionan bronquiolitis y episodios recurrentes de sibilancias, con una sintomatología prácticamente indistinguible a la del VRS^{154,155}.

Las infecciones más graves por hMPV suceden durante la primoinfección en niños pequeños, viéndose un pico de hospitalización entre los 3 y 5 meses de vida, a diferencia del VRS en el que dicho pico ocurre a los 2 meses de vida^{155,156}; también se puede detectar en adultos en los que la clínica suele ser más leve e incluso asintomática¹⁵⁷. Estudios de seroprevalencia han demostrado su alta tasa de transmisión¹⁵⁵. Muchos autores piensan que la infección es especialmente frecuente en pacientes inmunodeprimidos y en prematuros¹⁵⁸.

Es importante destacar el elevado porcentaje de coinfecciones virales (9-27% de los casos) encontradas en los estudios realizados^{151,159,160}, siendo esto debido a la parecida distribución estacional de la mayoría de las infecciones por virus respiratorios como rinovirus, adenovirus, virus de la gripe, parinfluenza, enterovirus, bocavirus, el propio metaneumovirus y el VRS. Así pues, es posible la simultaneidad de una

infección por hMPV y por VRS, pudiendo esto contribuir a que la infección sea más grave¹⁶¹.

El hMPV es un "nuevo" patógeno en el que hay que pensar al hacer el diagnóstico diferencial en niños que presentan bronquiolitis o infecciones altas y bajas del tracto respiratorio, particularmente en los que son negativos los test de inmunofluorescencia para VRS, adenovirus y virus de la gripe¹⁶².

3. Patogenia

En voluntarios adultos se puede producir una infección experimental tras un periodo de incubación medio de 5 días. La mayoría de los estudios existentes confirman este valor como periodo medio de incubación, con un rango de 2-8 días¹⁹. Estos estudios no han sido efectuados de forma específica en población anciana al ser el diagnóstico viral por cultivo más difícil, pero se supone que la duración es algo más corta y los títulos sensiblemente más bajos. En los niños hospitalizados por enfermedad de vías respiratorias bajas, el VRS es eliminado en grandes cantidades durante un periodo de unos 21 días¹⁶³.

La infección se transmite mediante mecanismos directos, de persona a persona por vía aérea o mediante autoinoculación a partir de superficies contaminadas. La vía de entrada del virus se puede producir a través de la nariz o los ojos; ambas puertas de entrada parecen tener una sensibilidad similar, mientras que por el contrario la boca es una vía de inoculación mucho menos sensible. Los aerosoles no se consideran una vía importante de difusión, al ser poco estable el virus en suspensión.

Por regla general la infección por VRS se limita a las vías respiratorias, diseminándose de las vías respiratorias altas a las bajas. Una vez que el virus penetra en las células del epitelio mucoso respiratorio, se produce la replicación viral pasando el virión rápidamente de célula a célula y más tarde a la sangre (viremia).

En los lactantes con patología de vías aéreas bajas por VRS, ésta suele presentarse como neumonía y bronquiolitis aguda, siendo ésta definida por *McConnachie* como el primer episodio agudo de dificultad respiratoria con sibilancias, precedido de un cuadro catarral de vías altas (rinitis, tos con /sin fiebre), que afecta a niños menores de dos

años, aunque preferentemente se da en el primer año de vida. Pero no todos los autores están de acuerdo, y algunos la definen como un cuadro agudo de sibilancias que afecta a un niño previamente sano y que acompaña a una enfermedad viral respiratoria aguda, sin precisar si es un primer episodio o son episodios de repetición.

Durante el primer año de vida el calibre de los bronquios es pequeño en comparación con la superficie alveolar, el cartílago es blando y hay un número de glándulas mucosas mayor que en otras edades. Esta situación favorece la fácil oclusión de la vía aérea por fenómenos mecánicos. Al inicio de la bronquiolitis, los hallazgos patológicos consisten en una infiltración linfocitaria peribronquiolar con algo de edema de las paredes y del tejido circundante¹⁶⁴. Más tarde tiene lugar la proliferación y necrosis características del epitelio bronquiolar por la acción citopática viral; las luces de los bronquíolos se obstruyen por la descamación de las células epiteliales y el aumento de las secreciones mucosas a este nivel. Hay un aumento de la resistencia al flujo aéreo tanto en inspiración como en espiración, pero es mayor en la última cuando la luz se estrecha aún más por la presión positiva espiratoria. Como consecuencia de todo esto, hay un atrapamiento aéreo en la periferia de los conductos alveolares parcialmente ocluidos. Cuando se produce la obstrucción completa, se reabsorbe el aire atrapado produciéndose múltiples y características áreas de atelectasia. Los niños más pequeños son los más sensibles a que se produzcan estas zonas atelectásicas, pues no tienen desarrollados los canales colaterales que mantienen la expansión alveolar en presencia de obstrucción de las vías aéreas.

En resumen, en la bronquiolitis por VRS se producen aumentos del volumen pulmonar y de la resistencia espiratoria¹⁶⁵. Así mismo quedan al descubierto los receptores vagales que al ser estimulados por el frío o

por la acción mecánica de la descamación condicionan la aparición de broncoespasmo y disnea¹⁶⁶.

Los pacientes con neumonía presentan un infiltrado intersticial con predominio de células mononucleares, pudiéndose acompañar de zonas edematosas y necróticas que ocupan el espacio alveolar^{164,167}.

En la infección de las vías bajas respiratorias por VRS en niños, con frecuencia se pueden evidenciar ambos signos histopatológicos, los propios de bronquiolitis y los característicos de neumonía.

La mayoría de los pacientes con bronquiolitis presentan signos histológicos de recuperación dentro de la primera semana de enfermedad, marcada por el comienzo de la regeneración del epitelio bronquiolar¹⁶⁴, si bien las células ciliadas pueden estar ausentes durante semanas, pudiendo incluso persistir indefinidamente otras alteraciones morfológicas¹⁶⁸. El epitelio inflamado y denudado por la primera infección VRS es terreno predispuesto para futuras reinfecciones víricas, de menor gravedad, pero que cursan con disnea por irritación de los receptores vagales que se encuentran al descubierto.

3.1. Teorías

Hoy en día todavía continúa sin aclararse la forma en que el VRS causa las modificaciones patológicas anteriormente comentadas. El virus causa la enfermedad más devastadora cuando los anticuerpos específicos derivados de la madre están presentes de forma clara con títulos altos. La gravedad de la infección por VRS en el lactante con altos niveles de anticuerpos circulantes inducidos por una vacuna frente el VRS inactivado, sugiere la existencia de mecanismos inmunológicos que podrían contribuir a la patogenia de la enfermedad en los lactantes¹⁶⁹.

A finales de los años sesenta se iniciaron los estudios con la primera vacuna frente al VRS inactivada por formolaldehído¹⁶⁹. Los niños que recibieron la vacuna desarrollaron altos niveles de anticuerpos frente las glicoproteínas F y G, pero relativamente pocos anticuerpos neutralizantes frente al VRS. Pero cuando se expusieron a la infección natural por VRS, los niños inmunizados no presentaron protección frente la infección por VRS; algunos niños desarrollaron la enfermedad de forma exagerada precisando ingreso hospitalario, lo cual sugiere que el formol destruye los epitopos neutralizantes.

Se han propuesto varios mecanismos inmunológicos para explicar el aumento de la enfermedad en estos niños vacunados. Especial atención se ha dedicado al papel de los anticuerpos en la patogenia, se ha hablado de una reacción por inmunocomplejos (mecanismo inmunológico tipo 3) entre el virus y la inmunoglobulina G adquirida pasivamente y presente en el pulmón del niño, en especial cuando falta la defensa local ofrecida por la inmunoglobulina A. Otras hipótesis han sugerido que las manifestaciones clínicas podrían ser consecuencia de un mecanismo inmunológico tipo 1 (Inmunoglobulina E específica frente el VRS) ó de tipo 4 (respuesta atenuada de las células T). El papel que desempeña cada uno de estos mecanismos es aún hoy cuestión de discusión, si bien se relaciona la presencia de inmunoglobulinas con la protección a nivel del tracto respiratorio alto y bajo, y la respuesta celular con el control y la finalización de la infección¹⁷⁰.

Otra hipótesis es la que plantea que los niños más afectados son aquellos que tienen un retraso en la maduración del sistema inmunológico. La respuesta de los anticuerpos frente la infección por VRS en los niños más pequeños suele ser pobre y aparentemente está relacionada de forma inversa con la cantidad de anticuerpos adquiridos de forma pasiva de la madre¹⁷¹. Es posible también que los niños sean incapaces de responder con niveles adecuados de anticuerpos. La

proteína G, altamente glucosilada, parece ser un inmunógeno relativamente débil en niños. Se ha señalado que los niños tienen disminuida la producción de anticuerpos frente a ambas proteínas, F y G, y que la mayoría fracasa en el intento de producir anticuerpos neutralizantes en suero y en exudado nasal. Así mismo, es posible que los anticuerpos maternos inhiban la respuesta específica de los linfocitos T citotóxicos.

De forma alternativa, se puede explicar la infección grave por VRS en la primera infancia sin la participación de mecanismos inmunológicos. La exposición a grandes dosis de virus, junto con el pequeño calibre de las luces de las vías aéreas del niño pueden ser causa suficiente para producir la grave patología observada. Las vías aéreas del niño son especialmente vulnerables a cualquier grado de infiltración y obstrucción, dado que la resistencia al flujo de aire tiene una relación inversa al cubo de su radio. La infección en las pequeñas vías aéreas periféricas del lactante genera cambios fisiológicos más importantes que en el niño de más edad, estando los mecanismos compensadores menos desarrollados en los primeros²¹.

Por otra parte, los factores que hacen a las personas de mayor edad susceptibles a padecer reinfecciones de alta gravedad tampoco están claros, se piensa que están en relación con la presencia de enfermedades cardiopulmonares de base y con la involución que sufre el sistema inmunológico a esta edad¹⁷¹.

3.2. Inmunidad

3.2.1. Humoral

Las infecciones por VRS son tan comunes en la población infantil que puede asumirse que todos los niños han sido infectados por el VRS al llegar a la edad escolar. Los recién nacidos reciben de forma pasiva de la madre anticuerpos neutralizantes específicos y anticuerpos frente a la mayor parte de las glicoproteínas de la membrana del virus. Si no hay infección natural, los niveles de anticuerpos caen en los siguientes 6-7 meses hasta hacerse prácticamente indetectables al final de ese periodo. Sin embargo, durante el primer año de vida, entre un 25-50% de los niños tienen ya anticuerpos específicos como resultado de las infecciones espontáneas y que prácticamente todos han sufrido al llegar a los 4-5 años. Esta infección primaria raramente es asintomática. Con frecuencia las infecciones se repiten, pero después de la primera exposición es poco frecuente el desarrollo de una enfermedad grave. El compromiso de las vías aéreas bajas puede producirse con las infecciones repetitivas, pero suelen estar limitadas a los extremos etarios.

Se desconoce el papel que cumplen los anticuerpos y los linfocitos T en las respuestas a las infecciones primarias y recurrentes.

Estudios realizados en primates con la vacuna inactivada por formolaldehído, sugieren que los anticuerpos no neutralizantes inducidos por esa vacuna pueden activar el complemento y permitir la formación de inmunocomplejos a nivel pulmonar. Este estudio propone un nuevo mecanismo por el cual la sensibilización neonatal podría causar posteriores sibilancias. Los neonatos tienen una pobre respuesta por anticuerpos T independientes en comparación con los adultos y tienden a hacer una respuesta humoral. Es posible que la edad de la primera

infección por VRS establezca el patrón de producción de anticuerpos ante una reinfección, estimulando la producción de anticuerpos reactivos y la consecuente reactividad bronquial^{172,173}.

También falta por aclarar el papel de los anticuerpos séricos en la inmunidad frente al VRS. El nivel sérico de anticuerpos no actúa como nivel predictivo del riesgo de infección, de la gravedad de la enfermedad ni de la rapidez en la recuperación de la enfermedad en niños o adultos⁶. Los anticuerpos maternos no aseguran una protección completa durante la niñez, aunque varios estudios correlacionan los altos niveles de anticuerpos maternos adquiridos de forma pasiva con menores índices de infección e incluso con una menor gravedad del cuadro infeccioso¹⁷⁴.

Estudios realizados en ratones carentes de células B sugieren que los anticuerpos séricos no son necesarios para la eliminación del VRS en la infección primaria, pero si parecen ser un factor importante en la protección frente reinfecciones¹⁷⁶.

Una proporción importante de niños y adultos infectados no producen incrementos en los niveles séricos de anticuerpos¹⁷⁷. Esto ocurre de forma más significativa en las edades más tempranas de la vida y está asociado de forma inversa a los niveles de anticuerpos anteriores a la infección en todos los grupos de edad. Estudios realizados en adultos encontraron además una relación inversa estadísticamente significativa entre las tasas de infección (definidas como eliminación de virus o como respuesta inmune específica en suero) y los niveles previos de anticuerpos séricos. El 25% de los sujetos con títulos altos de anticuerpos pueden sin embargo infectarse de nuevo más adelante.

Estudios recientes han permitido definir mejor las respuestas de los anticuerpos frente a proteínas VRS específicas y no han podido

relacionar la inmunidad humoral con la patogenia de la enfermedad por VRS. Si que se obtuvieron evidencias importantes sobre los posibles efectos beneficiosos y protectores de los anticuerpos humorales específicos. La administración pasiva de anticuerpos monoclonales frente las proteínas F y G, o la inmunización con estas proteínas, produjo la protección casi completa del pulmón frente al VRS pero no de las vías aéreas superiores^{61,178-180}. Estudios con inmunoglobulina hiperinmune frente VRS en lactantes demostraron que los niveles más altos de anticuerpos protegen frente la enfermedad más grave por VRS¹⁸¹.

Se desconoce si la variación entre cepas es un factor significativo en la determinación de la respuesta inmunológica o clínica. Existen evidencias a favor de que la infección previa por un virus de una cepa del grupo A proporciona más protección frente reinfecciones por una cepa homóloga o heteróloga¹⁸².

La producción local de anticuerpos puede tener importancia en la infección por VRS, dado que el virus se disemina de una célula a otra. En estudios animales los anticuerpos circulantes no impiden la replicación viral en las fosas nasales^{178,183}.

También se ha podido detectar una actividad neutralizante en las secreciones nasales de varios niños con infección por VRS, pero no se pudo correlacionar con protección o con la gravedad de la enfermedad¹⁸⁴. Esta actividad neutralizante en las secreciones estaba asociada con una menor liberación del virus, y también fue observada en el momento de ingreso hospitalario en secreciones de niños con infección primaria por VRS^{24,184,185}. La acción inespecífica de esta actividad neutralizante ha sido definida y demostrada en niños en proceso de recuperación de una infección por VRS en los que se genera una respuesta inmunoglobulina A específica, que si bien no neutraliza el

virus, si se correlaciona su presencia con títulos inferiores de éste. Así mismo es posible detectar anticuerpos específicos IgM, IgG e IgE en las secreciones de estos niños infectados^{184,185}. Los anticuerpos IgM aparecen de forma temprana y desaparecen con posterioridad; los IgG aparecen más tarde. La respuesta inmunológica de las mucosas del niño frente las proteínas F y G es similar a su respuesta sérica, estando más disminuidas en los niños más pequeños y siendo menor frente la proteína G. La proteína F parece generar una mejor respuesta con mejor proporción entre IgA e IgE¹⁸⁷.

La mayoría de los niños con infección por VRS despiertan una respuesta transitoria de anticuerpos específicos IgE ó IgG en las vías respiratorias¹⁸⁵. La magnitud y la proporción de la respuesta específica IgE y de las concentraciones de histamina en las secreciones nasofaríngeas se ha correlacionado con sibilancias en la fase aguda y con posteriores episodios de broncoespasmo. La respuesta IgE podría iniciar una cascada de mediadores que desencadenan la respuesta inflamatoria en el pulmón del niño¹⁸⁸. Se ha demostrado que las secreciones de los niños con bronquiolitis por VRS también contienen niveles aumentados de leucotrieno LTC4 y de proteína catiónica eosinófila, pudiendo ambos jugar un papel importante en el desarrollo de broncoespasmo e inflamación de las vías respiratorias^{189,190}.

En cuanto a la relación entre los niveles séricos de anticuerpos y la susceptibilidad a la infección en los sujetos de edades más avanzadas, son muy pocos los datos publicados. Se barajan sin embargo algunas hipótesis que justificarían un riesgo más elevado dentro de este grupo, entre ellas la existencia de un sistema inmunológico más debilitado, pero lo cierto es que no se han encontrado diferencias en los títulos de anticuerpos séricos de ambos grupos así como tampoco ha podido ser demostrada diferencia alguna entre la capacidad de neutralización de dichos anticuerpos.

3.2.2. Celular

Probablemente la inmunidad celular sea esencial en la respuesta a la infección y en la recuperación posterior. En adultos y niños con déficits inmunitarios celulares, así como en animales de experimentación inmunodeprimidos, se observó que estos pacientes presentan una enfermedad más grave y una excreción viral más prolongada¹⁹¹⁻¹⁹³, sin embargo el papel exacto que cumple la inmunidad celular tanto en la protección, como en el desarrollo y recuperación del proceso infeccioso, no ha sido aclarado por el momento.

Los neutrófilos son el tipo celular dominante encontrado en el lavado broncoalveolar de los niños con VRS, y los niveles aumentados de IL-8, un potente quemoatrayente neutrofílico, diferenciando la infección por VRS del tracto respiratorio inferior¹⁹⁴.

Los linfocitos T citotóxicos (CTL) con restricción del complejo mayor de histocompatibilidad clase I específico para VRS, identificados en un principio en pulmones y bazo de ratones, se detectaron con posterioridad en sangre periférica de humanos adultos sin infección aguda por VRS¹⁹⁵. Se demostró que esta respuesta de los linfocitos T citotóxicos estaba asociada con un curso clínico más leve en voluntarios adultos infectados¹⁹⁶. Los niños con infección primaria también pueden presentar reactividad CTL específica de los linfocitos T citotóxicos en los 10 días posteriores al inicio de la infección¹⁹⁷. Se ha demostrado que las proteínas N, F y M2 son los objetivos de los linfocitos T citotóxicos tanto en ratones como en seres humanos. Los CTL humanos reconocen así mismo las proteínas SH, M y NS2^{195,198,199}.

También se ha estudiado la respuesta de los linfocitos T *helper* frente al VRS en humanos y ratones^{200,201}. Los linfocitos de sangre periférica de seres humanos adultos carentes de células T CD8+ proliferan al ser expuestos a VRS completo o a las proteínas F, G, M2 y P²⁰¹. El tipo de

respuesta de células Th frente al VRS puede afectarse por la clase de inmunización²⁰².

En ratones infectados por VRS tras la imprimación inicial con VRS inactivado se vió que producían mayor expresión de ARN mensajero para interleucina 4 (IL-4), comparada con la de interferón gamma (INF-gamma), así como de IL-2 (citosina inmunomoduladora que aumenta la proliferación de CD4+ y que actúa como factor de crecimiento de células CD8+), lo que sugiere una respuesta Th1^{202,203}. Las líneas celulares T específicas para la proteína F contienen células CD4+ con características de Th1 y algunas células CD8+, mientras que las líneas de células T específicas para la proteína G son, sobre todo, células CD4+ con un perfil de citocinas Th2 (elaboran IL-4, una interleucina que estimula la producción de IgE, así como la producción de IL-5 que juega un papel importante en la reacción de hipersensibilidad de tipo inmediato)^{203,204}.

Se ha evaluado la producción de citocinas inducidas por VRS en distintas células, incluyendo células epiteliales, macrófagos y mononucleares de sangre periférica²⁰⁵⁻²⁰⁷. La infección de células epiteliales respiratorias por VRS se asocia a la producción de IL-6, IL-8 y factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos. IL-6 e IL-8, además del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), IL-1 α , IL-1 β e IL-11 son producidos por la línea A549 de las líneas celulares epiteliales infectadas por VRS, que tienen características de célula epitelial alveolar tipo II²⁰⁶. Se demostró que los líquidos de lavado nasal obtenidos de niños de entre 3-54 meses de edad contenían niveles aumentados de IL-1 α , IL-8, IL-6 y TNF- α durante las infecciones de las vías respiratorias altas por VRS²⁰⁸. Estas citocinas podrían iniciar o incrementar las respuestas inflamatorias locales²⁰⁹.

La infección por VRS aumenta la expresión de la molécula de adhesión celular 1 de las células epiteliales respiratorias, lo que podría incrementar la adhesión, infiltración y extravasación de células inflamatorias^{206,210,211}. La modificación de estas respuestas es un aspecto importante en el estudio de nuevos agentes terapéuticos.

Estudios realizados por *Sigurs et al.* han mostrado que los niños que desarrollan afectación del tracto respiratorio inferior en la infección por VRS, también pueden tener niveles altos de IL-4 como respuesta a algunos neuroalergenos²¹². Este estudio sugirió un papel de la infección respiratoria viral aguda en la inducción de respuestas Th2 hacia alérgenos y una potencial asociación entre alergia y asma, al permitir que los antígenos inhalados penetren las barreras mucosas y epiteliales del árbol respiratorio y encuentren células presentadoras de antígenos y células T específicas, desencadenando la sensibilización sistémica. La sensibilización específica hacia la producción de citocinas Th2 puede inhibir la diferenciación y función de las células Th1. Igualmente, las células productoras de INF-gamma inhiben el aumento de las células Th2.

La infección directa, la producción local de citocinas y otros mediadores por las células epiteliales y macrófagos y la diferencia potencial entre las respuestas inmunes locales y sistémicas podrían explicar los mecanismos por los cuales las respuestas de las citocinas producidas por los monocitos sanguíneos periféricos se alteran durante la infección por VRS de las vías respiratorias bajas²¹³.

Las investigaciones postulan que el VRS por sí mismo podría prevenir el inicio de la respuesta antiviral efectiva inhibiendo la producción de IL-12, sugiriendo la participación de la inmunidad celular tanto en la inducción como en la recuperación de la infección de vías bajas por VRS²¹⁴.

Asociado a las citocinas, hay otros factores que pueden influir en la diferenciación de las células CD4+ en poblaciones específicas Th, como la acción de los antígenos, el tipo de célula presentadora y el complejo mayor de histocompatibilidad.

La susceptibilidad genética del huésped pediátrico a padecer secuelas tras bronquiolitis consistentes en episodios sibilantes recurrentes y asma, pueden depender de la relativa inmadurez del pulmón y los sistemas inmunes, la edad cronológica y el tiempo de comienzo de la enfermedad, ejerciendo su mayor influencia en el resultado a largo plazo de un proceso infeccioso agudo.

3.3. Bronquiolitis VRS y patogénesis del asma en la infancia

El asma es la más común de las enfermedades crónicas en la infancia, afectando a unos 155 millones de individuos en el mundo^{215,216}. En la mayoría de los casos, los síntomas asmáticos aparecen en los primeros años de la vida y en los pacientes con síntomas asmáticos en periodos adultos tempranos, los síntomas y las alteraciones en la función pulmonar están presentes ya en la primera década de la vida, en particular, antes de los 3 años de vida.

El asma es una patología heterogénea, con variabilidad inter e intra individual tanto en sus signos como en sus síntomas, compartiendo como síntoma común la obstrucción de las vías aéreas. Factores genéticos y ambientales influyen en la expresión y progresión de la enfermedad, como la predisposición genética a padecer asma y/o atopia, las infecciones virales, la prematuridad, el hábito tabáquico materno en el embarazo, la exposición postnatal al humo del tabaco, el asma materno, el crecimiento y desarrollo del tracto respiratorio y la temprana sensibilización a neuroalergénos²¹⁷.

Las enfermedades pulmonares que afectan las vías respiratorias de forma temprana en la vida pueden afectar al desarrollo del control de los mecanismos involucrados en la regulación del tono muscular de la vía aérea. Los procesos por los que se desarrolla la hipersensibilidad de las vías aéreas en la infancia no se han identificado por el momento²¹⁷.

Una explicación podría ser que el VRS persista o de algún modo afecte los sistemas respiratorios e inmunes inmaduros del neonato, predisponiendo al huésped a las infecciones respiratorias recurrentes, la hiperreactividad bronquial y las secuelas a largo plazo tanto pulmonares como inmunológicas. La población infantil susceptible puede tener previamente disminuida la función pulmonar y/o padecer una susceptibilidad genética para el desarrollo de enfermedades pulmonares. La predisposición para desarrollar asma o hiperreactividad pulmonar puede estar agravada por las infecciones pulmonares virales severas en la infancia²¹⁸. Las interacciones prenatales entre los sistemas inmunes del niño y su madre, patrones alterados de maduración postnatal de los sistemas respiratorio e inmune en edades precoces y el aumento en la producción de citocinas que estimulan la función de las células inflamatorias de forma secundaria a infecciones víricas, han sido propuestos como potenciales inductores de cambios tanto en la estructura como en la función pulmonar.

Actualmente hay evidencias convincentes de que los niños que sufren síntomas respiratorios de vías bajas durante la infección por VRS en épocas tempranas de la vida, tienen un riesgo elevado de presentar asma bronquial en edades escolares. Esto fue mencionado inicialmente por *McIntosh*, invocando una patogenia común¹⁶⁶.

Existen diversos estudios que relacionan la bronquiolitis por VRS con secuelas a largo plazo. Un grupo sueco vio que la prevalencia actual y

acumulada de asma y sibilancias recurrentes era significativamente mayor en el grupo VRS que en el grupo control a los 7.5 años.

También la sensibilización alérgica fue significativamente más prevalente en el grupo VRS que en el control. Un análisis multivariante de estas observaciones identificó a la bronquiolitis por VRS como un factor de riesgo independiente para el asma y también como un importante factor de riesgo para las sibilancias y la sensibilización alérgica. El factor de riesgo más importante para la sensibilización alérgica fue la historia de atopia de ambos padres seguida por la bronquiolitis por VRS. La bronquiolitis por VRS apareció como factor de riesgo más importante en el desarrollo de asma por encima de los 7.5 años que la herencia de atopia/asma, el sexo masculino o que varios factores ambientales. Otros estudios han concluido sugiriendo que la bronquiolitis por VRS en la infancia puede aumentar el riesgo de sensibilización alérgica al crear un ambiente localmente rico en IL-4, el cual estimula la producción de IgE y la sensibilización a neuroalergenos y alergenios de faneras animales²¹⁷.

Una atractiva hipótesis patogénica que explicaría el asma postbronquiolitis VRS es la inflamación neurógena. En los niños con bronquiolitis se pueden alterar las vías neuronales que influyen sobre el tono del músculo liso y sobre la liberación de neurotransmisores en las vías respiratorias²¹⁹, proponiéndose interacciones combinadas neuroinmunes desatadas por el virus que pueden iniciar y disparar la cascada inflamatoria causando episodios recurrentes de edema de mucosa, hiperreactividad bronquial y obstrucción reversible de la vía aérea.

El VRS en el lactante con bronquiolitis, se encuentra en las vías respiratorias inferiores y al tener estos niños unos pulmones inmaduros, la inervación pulmonar es más rica, con lo que las terminaciones

nerviosas pulmonares son estimuladas por el VRS dando lugar a la liberación del neuropéptido P, que es un factor proinflamatorio, cuyo receptor de alta afinidad, *Neurokin 1 receptor* (NK-1), se encuentra en los vasos y células como neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y macrófagos. Como consecuencia de todo ello, en los vasos aumenta la permeabilidad y se produce edema, los neutrófilos y eosinófilos emigran al pulmón y los linfocitos y macrófagos secretan citocinas, dando como resultado la inflamación de las vías aéreas. Este mecanismo puede establecer importantes interacciones neuroinmunes que mantienen la disregulación más allá de la infección por VRS, creando una predisposición de las vías aéreas a la inflamación e hiperreactividad ante estímulos como el aire frío, alérgenos o irritantes²²⁰.

Estudios recientes muestran que la infección por VRS promueve un gran aumento del factor de crecimiento nervioso (NGF) y de receptores neurotróficos. La liberación de NGF inducida por el VRS, causa a largo y corto plazo cambios en la distribución y reactividad de las terminaciones sensoriales a lo largo del aparato respiratorio, interviniendo en las reacciones inflamatorias exageradas durante y después de la infección. El NGF y sus receptores pueden también amplificar otras vías inmuno y neuro inflamatorias contribuyendo a la inflamación e hiperreactividad de la vía aérea²²¹.

Los niños menores de tres años presentan una elevada incidencia y prevalencia de episodios sibilantes recurrentes, con diversos subgrupos que expresan diferentes respuestas inflamatorias ante agentes desencadenantes diversos, subgrupos que difieren en etiopatogenia e inmunopatología. En general se distinguen tres fenotipos epidemiológicos en lactantes con sibilantes recurrentes según la cohorte de Tucson²²²:

- + Sibilantes precoces transitorios: representan el 40-60% y el principal factor de riesgo es la disminución de la función pulmonar al nacer.
- + Sibilantes persistentes no atópicos: corresponde al 20% y está relacionado con infecciones virales. Dentro de este fenotipo se encuadraría la enfermedad reactiva de las vías aéreas prostbronquiolitis. Se inicia antes del año de vida y se prodiga más allá de los 3-5 años. La función pulmonar es normal en el nacimiento deteriorándose posteriormente.
- + Sibilantes persistentes atópicos: otro 20%, caracterizada por atopia y sensibilización a alergenos.

Hoy se admite que una serie de datos que se pueden observar durante una bronquiolitis por VRS, pueden constituir un valor predictivo de las recaídas del asma del lactante: la elevación de IgE específica frente VRS, el aumento de la proteína catiónica eosinófila en suero o secreciones, el aumento del INF-gamma en secreciones, la presencia en suero de eosinofilia o eosinopenia y el aumento de IgE total de forma transitoria²²³. Para poder identificar a este grupo de lactantes de riesgo, *Martínez*²²⁴ estructuró según unos criterios de riesgo mayores: 1) Bronquiolitis grave; 2) Tres o más episodios de sibilancias en los 6 meses siguientes a la bronquiolitis; 3) Historia familiar de asma, y 4) Dermatitis atópica. Y unos criterios de riesgo menores: 1) Rinorrea inespecífica; 2) Sibilancias; 3) Eosinofilia, y 4) Sexo varón. El riesgo de asma del lactante, Índice Predictivo de Asma, se establecería con la existencia de los criterios mayores 1 ó 2 más 3 ó 4, así como con los criterios mayores 1 ó 2 y dos criterios menores.

Los lactantes con un Índice Predictivo de Asma positivo tuvieron siete veces más riesgo de ser asmáticos en la edad escolar que aquellos con

un índice negativo, no estando clara la utilidad predictiva a nivel individual.

Muchas de las citocinas, quimiocinas, células respondedoras y mediadores solubles que intervienen en la obstrucción causada por infecciones víricas se encuentran también presentes en el curso del asma alérgico²²⁵. No se conoce muy bien la causa que determina esta asociación, pero aumenta la probabilidad de que la sensibilización alérgica juegue un papel menor como determinante de los sibilantes postinfección VRS. Hallazgos actuales sugieren que tanto factores genéticos como ambientales determinan el tipo de respuesta inmune en las infecciones agudas por VRS. Muchas citocinas diferentes parecen tener importancia en esta respuesta inmune aguda, incluido el INF-gamma, IL-8, 10 y 12 y citocinas producidas por linfocitos Th1 y Th2, considerada como la célula clave en la respuesta inflamatoria alérgica.

Dado que el asma es una patología heterogénea, son necesarios estudios que determinen el diferente papel potencial de la infección por VRS como factor de riesgo de los diferentes fenotipos de asma. Es probable que medidas preventivas de la infección por VRS puedan tener su papel en la prevención del desarrollo posterior de sibilantes persistentes y síntomas similares al asma a lo largo de la infancia.

4. Manifestaciones clínicas

4.1. Infección en niños pequeños

Las infecciones primarias por VRS se manifiestan como patología de las vías respiratorias altas o bajas, neumonía, bronquiolitis (inflamación de las vías respiratorias bajas de etiología vírica que cursa clínicamente con dificultad respiratoria y ruidos respiratorios audibles que ocurre en un niño menor de 2 años, algunos autores añaden que ha de ser el primer brote, pero puede haber más de un brote en un mismo año aunque los posteriores suelen ser más leves) o traqueobronquitis, con frecuencia acompañadas por fiebre y otitis media. La enfermedad asintomática es poco frecuente^{5,17,20,226} y en la primoinfección hay un elevado riesgo de compromiso de las vías respiratorias inferiores. En estos niños se ha visto que la infección por VRS se asocia con una mayor demanda de atención urgente y hospitalización que en niños afectados por otros virus respiratorios²²⁷.

La neumonía o la bronquitis ocurren en el 30-71% de los casos. En poblaciones infantiles cerradas puede llegar al 89%^{6,19,226}.

La neumonía y la bronquiolitis son la patología de vías respiratorias bajas más frecuentes en la población infantil^{4,5,226}. La forma de presentación clínica menos común es el crup, presente en menos del 5-10% de los casos²²⁶. Con frecuencia es difícil diferenciar la neumonía de la bronquiolitis, en los lactantes pueden aparecer signos de ambos síndromes de forma simultánea, como sibilancias, estertores e infiltraciones en las radiografías de tórax⁷⁸. La bronquiolitis se caracteriza por las sibilancias y la hiperaireación pulmonar, y en ella los infiltrados se deben a atelectasias, pero a menudo no se pueden diferenciar de las imágenes neumónicas.

Por regla general la enfermedad de vías respiratorias bajas va precedida por una infección en las vías aéreas superiores, con congestión nasal y rinofaringitis. En la mayoría de los lactantes se asocia fiebre cuyo grado y duración, entre 2 y 4 días, no se correlaciona con la gravedad de la enfermedad, no soliendo estar presente en el momento del ingreso. La tos es frecuente, siendo una tos paroxística y asociada al vómito sin el estertor típico de la tos ferina²². La presentación clínica en forma de laringitis y disfonía es rara. Tras este primer periodo se hace evidente el compromiso de las vías respiratorias bajas, con disnea, aumento de la frecuencia respiratoria y retracción de los músculos intercostales, la espiración tiende a estar alargada y a la auscultación pueden estar presentes crepitantes y sibilancias intermitentes de intensidad variable^{22,228}.

La radiografía de tórax, cuya utilización no se recomienda de forma rutinaria en la bronquiolitis aguda, suele presentar múltiples zonas de infiltración intersticial e hiperinsuflación pulmonar²²⁸⁻²³⁰. Pero estos hallazgos pueden ser mínimos pareciendo la gravedad de la enfermedad desproporcionada con respecto a ellos. Se ha demostrado que la hiperaireación pulmonar es un indicador especial de infección por VRS, apareciendo en más de la mitad de los niños ingresados. Puede haber un engrosamiento peribronquial y consolidación del parénquima por atelectasias en un 20-25% de los niños, con preferencia por los más pequeños, que suele localizarse en los lóbulos superior o medio derechos y suele ser una afectación subsegmentaria²²⁹. El derrame pleural es poco frecuente, apareciendo en un 5% de los casos.

La cianosis suele ser poco evidente en los niños ingresados, a pesar de poder presentar estos niños una hipoxemia importante.

La otitis media es una complicación frecuente en los niños pequeños infectados por el VRS^{19,22}. Con frecuencia hay una coinfección con un

agente bacteriano, generalmente el *Streptococcus pneumoniae*²³¹⁻²³⁴. Esta coinfección puede empeorar el pronóstico de la otitis media y asociarse a fracaso de la antibioterapia y secreción persistente^{233,235,236}.

En la mayoría de los casos la enfermedad dura entre 3 y 7 días, y cuando es necesaria la hospitalización ésta suele tener una duración media de 3 a 7 días²²⁸.

4.2. Infección en niños mayores y adultos

Las reiteradas infecciones que se producen después de los 3 años de vida suelen manifestarse como afectación de las vías respiratorias altas o traqueobronquitis, o en casos aislados de forma asintomática. Aunque también puede manifestarse como afectación de las vías respiratorias bajas.

Cuando se estudian familias con infección VRS, rara vez la primera consulta se debe a una reinfección^{237,238}. La mayoría de los miembros de la familia desarrollan signos de infección de vías respiratorias altas, con congestión nasal y tos. Si bien las infecciones por VRS pueden simular un resfriado común, suelen ser infecciones más prolongadas en el tiempo y más graves que el resto de infecciones del tracto respiratorio superior²³⁵. Las enfermedades producidas por el VRS suelen asociarse de forma más frecuente con fiebre y conjuntivitis, generalmente leves, en la fase aguda y con congestión nasal, tos y otalgia más prolongadas²³⁹.

Probablemente la infección natural por VRS en adultos jóvenes se haya estudiado mejor en personal médico y en personal hospitalario, ya que suelen estar en estrecho contacto con niños infectados²⁴⁰⁻²⁴¹. La mayoría de estos adultos jóvenes presenta un infección por VRS de forma sintomática. En la mitad de ellos la enfermedad es tan grave como para producir cierta incapacidad, un tanto por ciento elevado

desarrolla tos prolongada y signos que sugieren traqueobronquitis o bronquitis, a veces con otitis, lo que destaca la propensión que tiene el VRS de causar una enfermedad más grave y prolongada en adultos que otros patógenos comunes de vías respiratorias altas. Las infecciones recientes por VRS tienden a minimizar los síntomas en infecciones posteriores causadas por el mismo virus, pero aún así se producen enfermedades repetidas. La liberación de partículas virales dura de 3 a 6 días, con un rango de 1-12 días.

Las pruebas funcionales realizadas en pacientes jóvenes con síntomas clínicos moderados, demostraron un aumento de la resistencia pulmonar total, así como hiperreactividad pulmonar frente estímulos colinérgicos en las 8 semanas posteriores del inicio de la enfermedad.

Por lo general la proporción de ingresos hospitalarios por neumonía en adultos con infección demostrada por VRS varía entre el 2 y el 6%^{237,242,243}. En algunos estudios se ha visto que la neumonía por VRS presentaba algunos signos clínicos que la distinguían de los pacientes con neumonía de otra etiología, como eran las sibilancias y los estertores²³⁷. La radiología de tórax mostraba neumonía o consolidación en el 40% de los pacientes con infección VRS, correspondiendo en el 35% de ellos a una condensación lobar^{237,242}.

Aunque la infección por VRS en personas de edad avanzada, sobre todo institucionalizadas, se conoce desde hace tiempo, sólo de forma reciente se ha comenzado a prestar atención al impacto que ésta tiene sobre la atención médica de estas personas. En los ancianos internados en instituciones cerradas la infección por VRS suele tener un carácter nosocomial y suele producir una enfermedad grave (neumonía)²⁴⁰⁻²⁴².

4.3. Manifestaciones poco frecuentes

En diversos informes el VRS se ha asociado con diversas manifestaciones no respiratorias, desconociéndose el papel del virus en cualquiera de estas patologías asociadas.

Se han descrito trastornos del sistema nervioso central como meningitis, mielitis, ataxia y hemiplejía. Así mismo se ha asociado este virus con anomalías cardíacas como miocarditis y arritmias y también diversos exantemas de afectación troncular y/o facial^{23,243}.

4.4. Infecciones hospitalarias

Debido a las características del VRS, la infección VRS hospitalaria se produce de forma frecuente y con un peligro potencial que con frecuencia no se reconoce²⁴⁴⁻²⁴⁸. El VRS produce anualmente brotes infecciosos masivos en niños y adultos, incluso dentro del personal sanitario, que pueden presentar una manifestación lo suficientemente leve como para no requerir baja laboral. La diseminación viral está facilitada por la cantidad de niños pequeños ingresados durante un brote, ya que liberan altos títulos de virus durante periodos prolongados. Los ingresos hospitalarios son casi inevitables pues siempre existe una población susceptible, dada la alta frecuencia de reinfecciones por VRS.

Adams en 1941, describió un brote de neumonía hospitalaria en lactantes que causó una mortalidad del 28%, siendo probablemente la primera descripción de un brote nosocomial por VRS, aunque tuvieron que pasar 20 años para que se relacionara al VRS como agente causal cuando se observó un brote similar en niños, en un momento ya en el que el VRS podía ser identificado como agente causal¹⁵. Actualmente aún se presentan elevadas tasas de mortalidad entre los niños que asocian una enfermedad de base¹³⁹.

Las infecciones adquiridas de forma hospitalaria por lactantes y ancianos con enfermedades de base suelen ser sintomáticas y pueden variar desde un proceso febril hasta el compromiso grave de las vías respiratorias inferiores y el fallecimiento en alguno de los casos^{139,239,249}.

La rapidez con que se disemina de forma tan eficaz el VRS en el medio hospitalario se desconoce por el momento. Gracias a estudios antigénicos y genómicos²⁵⁰ de cepas específicas de VRS se ha podido identificar que más de una cepa de origen de VRS eclosiona en el mismo brote nosocomial. En la diseminación viral parecen jugar un papel importante el personal hospitalario e incluso los visitantes²⁴⁴. En los brotes nosocomiales la mitad del personal hospitalario, más o menos, adquiere la infección por VRS. La transmisión viral no sólo ocurre por la infección del personal hospitalario, sino también por la diseminación de las secreciones contaminadas desde los pacientes infectados a los demás pacientes ingresados a través del personal hospitalario, ya que el VRS de las secreciones de un lactante puede sobrevivir más de 24 horas en placas de laboratorio y de 15 a 60 minutos en batas, papeles, telas y piel. Los fomites se han implicado también como forma de transmisión del VRS de unos pacientes a otros³³.

4.5. Complicaciones

4.5.1. Niños con enfermedades subyacentes

La infección VRS complicada suele ocurrir con mayor frecuencia en niños con trastornos cardiopulmonares y trastornos congénitos^{23,191,251,252}.

Dentro de los grupos de alto riesgo para presentar enfermedad fatal por VRS se encuentran: los niños prematuros y la displasia

broncopulmonar^{251,256-258}, la fibrosis quística^{251,253,254}, las cardiopatías congénitas²⁵¹, los pacientes inmunocomprometidos de cualquier edad^{193,251}, las enfermedades neurológicas y los niños con síndrome nefrótico²⁵⁵.

La prematuridad es el factor detectado con mayor frecuencia, en especial los niños prematuros con muy bajo peso con posterior patología crónica pulmonar^{256,258,259}. Dicho factor adquiere importancia pasados el segundo y tercer año de vida²⁵⁷.

En diversos estudios se ha observado que los periodos de hospitalización más largos se registraron en los pacientes inmunocomprometidos, pero se observaron las tasas de mortalidad más altas entre los niños con enfermedades pulmonares crónicas y con cardiopatías congénitas. De estos últimos la mortalidad fue más alta entre los que padecían hipertensión pulmonar²⁵².

4.5.2. Niños inmunocomprometidos

La mayoría de las infecciones por VRS que causan complicaciones en pacientes inmunocomprometidos se adquieren en el medio hospitalario^{193,251,259,260}. Los déficits en la inmunidad celular asociados con procesos malignos, la quimioterapia y otras inmunodeficiencias tienen como consecuencia el desarrollo de una enfermedad por VRS más grave que en huéspedes sanos¹³². Esta supresión de la inmunidad celular parece ser el principal factor de aumento de gravedad de la infección por VRS pero no el único¹⁹¹, ya que estos niños suelen presentar mayores estancias hospitalarias y suelen precisar ingreso en unidades de cuidados intensivos con mucha mayor frecuencia que niños previamente sanos¹³².

En niños con fibrosis quística es bien conocido el papel que juegan las infecciones bacterianas recurrentes en la progresiva enfermedad

pulmonar, no siendo del todo conocido el papel de las infecciones virales. El déficit inmunitario humoral y celular, el retraso de la aclaración mucociliar, la función enzimática anormal y la interacción de microorganismos con las secreciones de la vía aérea pueden ayudar a un aumento de la susceptibilidad del huésped por las infecciones bacterianas y víricas¹³². Diversos estudios sugieren que estos pacientes con fibrosis quística tienen un riesgo elevado de ser hospitalizados por infecciones no bacterianas y que las infecciones virales pueden contribuir a un deterioro progresivo del parénquima pulmonar¹³².

Los pacientes trasplantados y sometidos a quimioterapia supresora suelen presentar infecciones pulmonares prolongadas así como una prolongada liberación viral. La manifestación radiológica más frecuente es una afectación intersticial difusa, pero también es posible observar derrames pleurales.

En pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) no está bien definida la frecuencia y la extensión de la morbilidad asociada al VRS²⁶¹. Parece ser el causante de neumonía en vez de bronquiolitis y sibilancias, con liberación de partículas virales durante un periodo prolongado de tiempo que puede durar meses. Así mismo parece ser que la infección por VRS en estos pacientes puede aumentar el riesgo de padecer sobreinfecciones por patógenos oportunistas¹³².

El tratamiento con aerosoles de ribavirina en estos pacientes inmunocomprometidos puede ser beneficioso si se inicia de forma temprana, habiéndose observado un descenso de la morbilidad de las infecciones nosocomiales en unidades de trasplante de médula ósea^{248,252,263}.

En el momento actual la única opción para la prevención de la infección por VRS en pacientes de alto riesgo, como los anteriormente

descritos, es la inmunoprofilaxis pasiva, bien con globulina hiperinmune policlonal, bien con anticuerpos monoclonales humanizados murinos frente la proteína de fusión del VRS²⁶⁴.

4.5.3. Complicaciones agudas

Entre las complicaciones agudas de la infección por VRS en el lactante se incluyen la apnea, la insuficiencia respiratoria y en raras ocasiones las infecciones bacterianas secundarias. La presencia de apnea se ha demostrado en el 20% de los lactantes ingresados por infección VRS²⁶⁵.

Así mismo, el VRS se ha asociado la infección por VRS como factor contribuyente al síndrome de muerte súbita del lactante, sobre todo en niños mayores de 3 meses, pero la evidencia ha sido sólo circunstancial²⁶⁶.

La hipercapnia progresiva, la insuficiencia respiratoria y la apnea son los tres factores fundamentales que llevan a la ventilación mecánica del paciente. Si bien la hipoxemia es muy frecuente en lactantes hospitalizados, la hipercapnia progresiva es poco frecuente. La infección bacteriana secundaria es inusual en la infección por VRS^{22,164}.

4.5.4. Complicaciones a largo plazo

Las complicaciones a largo plazo por la infección por VRS son difíciles de definir, ya que se desconoce la afectación pulmonar. También se sabe poco sobre el papel del VRS en la alta tasa de sibilancias y anomalías funcionales pulmonares demostrada en diversos estudios epidemiológicos y clínicos^{267,268}.

De forma más reciente se sugiere que los niños con sibilancias a edades tempranas presentan posteriormente hiperreactividad bronquial recurrente o sibilancias de repetición, pudiéndose dividir en dos grupos según su posterior evolución clínica²⁶⁹⁻²⁷².

El grupo más grande presenta ya una función pulmonar deteriorada al nacimiento, a través de un mecanismo anatómico no definido, pero los niños parecen ser normales, teniendo un riesgo más alto de desarrollar anomalías pulmonares crónicas.

El otro grupo, más pequeño, está formado por niños con una predisposición atópica y mayor probabilidad de desarrollar asma durante la posterior infancia. Todo esto sugiere que la prevención del VRS puede tener importancia en el posterior desarrollo de sibilancias de repetición^{273,274}.

Ciertos estudios han demostrado la existencia del VRS en tejidos a los 100 días de haber padecido una infección por VRS, por lo que se plantea la hipótesis de la existencia de células reservorio en las que permanece el VRS²⁷⁵, el cual sería capaz de desarrollar episodios de hiperreactividad bronquial recurrente²⁷⁶.

Finalmente se ha apuntado a las coinfecciones con el metapneumovirus como factor de riesgo que se asocia a los episodios de broncoespasmo.

5. Métodos Diagnósticos

En lactantes con enfermedad de las vías respiratorias inferiores, el diagnóstico de infección por VRS con frecuencia sólo se consigue a partir de los hallazgos clínicos y epidemiológicos, siendo éstos menos específicos que en los adultos.

El diagnóstico microbiológico del agente causal a penas tiene importancia a la hora del manejo del paciente.

Se puede llegar al diagnóstico específico a través del aislamiento del virus o mediante pruebas diagnósticas rápidas que empiezan a ser de uso frecuente. La muestra de elección para el aislamiento del virus es el aspirado nasofaríngeo, que se obtiene mediante el lavado nasal, pues permite obtener la tasa más alta de recuperación viral³⁷. De forma alternativa se puede usar el frotis nasofaríngeo y bucal. Puesto que el VRS es un virus lábil, sobretodo si se somete a variaciones de temperatura y pH, se ha de inocular la muestra en el medio de cultivo lo más rápidamente posible^{19,277-279}.

La gran cantidad de pruebas rápidas para el diagnóstico del VRS incluye técnicas de inmunofluorescencia y enzimoimmunoensayos (ELISA/EIA); otras pruebas son el radioinmunoensayo (RIA), la hibridación DNA-RNA y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)^{277,279,280}. No existe consenso sobre la utilidad de las pruebas de diagnóstico rápido de VRS y las razones dadas para justificar su uso son: permitir la vigilancia epidemiológica y aislar al paciente hospitalizado; simplificar el manejo diagnóstico y terapéutico de los lactantes pequeños con formas clínicas febriles; y orientar el manejo de pacientes graves.

*Kellog*²⁷⁷ analizó las ventajas relativas entre el cultivo, las técnicas por anticuerpos fluorescentes directa e indirecta y el ELISA/EIA. Las sensibilidades obtenidas de las técnicas rápidas comparadas con el cultivo celular dependen en parte de la habilidad técnica y de las líneas celulares del laboratorio que realiza el aislamiento viral. La baja recuperación de VRS a partir de cultivos aumenta la sensibilidad de las técnicas rápidas con las que son comparadas, variando entre el 57 y el 90%²⁷⁷. Sin embargo, los cultivos celulares tienen la ventaja de detectar agentes patógenos adicionales, aunque es un método más laborioso y los resultados tardan al menos 7 días utilizando los cultivos clásicos. En condiciones ideales, para el diagnóstico del VRS, habría que utilizar el cultivo viral en medio celular más una técnica rápida.

El diagnóstico serológico de la infección por VRS es más útil para estudios epidemiológicos que para el manejo del paciente, pues lo que tiene valor diagnóstico es la seroconversión, realizándose el diagnóstico *a posteriori*. Además, los lactantes, los ancianos con infecciones reiteradas y los pacientes inmunocomprometidos pueden no presentar un aumento significativo del título de anticuerpos^{18,44,237,278}. Entre los medios actuales para el diagnóstico serológico se encuentra la reacción de fijación de complemento, menos sensible que los ELISA/EIA, los ensayos por inmunofluorescencia y los de neutralización²⁹. Otras pruebas empleadas son la inmunoprecipitación, la inhibición de fusión y el *Western blot*, que junto con los ELISA/EIA y las pruebas por inmunofluorescencia pueden detectar anticuerpos específicos de clase dirigidos contra proteínas virales específicas²⁹. Gracias al ELISA/EIA se pueden detectar anticuerpos secretados específicos de clase frente al VRS en las secreciones faríngeas. Puesto que en la infección estos anticuerpos secretados pueden aparecer de forma más temprana que los anticuerpos humorales, se ha empleado su detección como coadyuvante para el diagnóstico por detección de antígeno²⁸¹. Otra

posibilidad es la detección de anticuerpos específicos frente al VRS en muestras de orina²⁸².

5.1. Inmunofluorescencia

Es una técnica que permite detectar y localizar antígenos en células o tejidos. El anticuerpo específico se conjuga con compuestos fluorescentes (ej. isocianato de fluoresceína), sin alterar su reactividad inmunitaria, dando como resultado un trazador sensible para los antígenos víricos (conjugado). El anticuerpo conjugado se añade a las células en las que se supone que se haya el virus y se fija a los antígenos víricos, formando así, un complejo inmunitario estable. El anticuerpo no fijado se elimina por lavado y la preparación resultante se observa en un microscopio de fluorescencia, pudiendo detectarse, por su color verde manzana brillante, los antígenos unidos específicamente a los anticuerpos fluorescentes. Es un método rápido, sensible y muy específico. La técnica de inmunofluorescencia directa utiliza un anticuerpo conjugado que permite la detección en un solo paso. La inmunofluorescencia indirecta usa dos tipos de anticuerpos, uno específico del virus al cual se fija y un conjugado fluorescente anti-anticuerpo. Ha mostrado una aceptable sensibilidad y especificidad en relación al cultivo viral, pero su realización es compleja, asocia cierta demora y depende de laboratorios especializados.

5.2. Enzimoimmunoensayo o ensayo inmunoabsorbido ligado a enzima (ELISA/EIA)

Consiste en la formación de un inmunocomplejo entre el antígeno y los anticuerpos específicos circulantes en el seno de las muestras, que será reconocido posteriormente por un anticuerpo antiinmunoglobulinas humanas (anti-IgA ó IgG) conjugado con un enzima (fosfatasa alcalina, peroxidasa, β -lactamasa, etc.). Esta preparación se visualiza al añadir un sustrato específico para el enzima, lo que provoca un cambio de coloración que es proporcional a la cantidad de inmunocomplejo

formado con la antiglobulina marcada, y por tanto, a la cantidad de anticuerpo específico presente en la muestra. Su lectura se realiza mediante un espectrofotómetro. El ELISA es una de las técnicas más aceptadas dada su accesibilidad, sencillez de manejo, bajo coste, posibilidad de automatización, objetividad, elevada sensibilidad, alta reproductibilidad y posibilidad de analizar un gran número de muestras al mismo tiempo, aunque muestran cierta pérdida de sensibilidad con respecto a la inmunofluorescencia directa^{283,284}.

5.3. Reacción de Fijación del Complemento (FC)

El sistema del complemento está constituido por 20 ó más proteínas plasmáticas que interactúan entre sí y con las membranas celulares²⁸³. En la mayoría de las reacciones antígeno-anticuerpo el complemento se une al complejo antígeno-anticuerpo y se consume o se fija²⁸⁵. Las pruebas de FC se realizan en dos etapas: el sistema de prueba, que permite la reacción del antígeno y el anticuerpo en presencia del complemento; y el sistema indicador, que contiene eritrocitos sensibilizados y detecta el complemento residual. La hemólisis indica que el complemento estaba presente en el sistema indicador; por lo tanto, no se formaron complejos antígeno-anticuerpo en el sistema de prueba²⁸⁶. Esta fijación del complemento es la que se emplea en la detección de cantidades pequeñas de anticuerpos. Se trata de un bioensayo serológico de alta sensibilidad y especificidad, que se utiliza para detectar y cuantificar anticuerpos. La ejecución de esta técnica requiere de gran cuidado en la estandarización de la prueba y una buena elaboración de controles^{283,285,286}.

5.4. Pruebas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Ofrecen la mayor sensibilidad, detectando un importante porcentaje de virus no identificados mediante cultivo viral o pruebas de detección antigénica, por lo que son consideradas el nuevo patrón de referencia.

Pero su coste, complejidad y falta de estandarización hacen inviable su aplicación en la práctica clínica.

6. Tratamiento

No existe un tratamiento etiológico efectivo para la infección de las vías aéreas bajas por VRS.

El mejor avance en el tratamiento farmacológico de la bronquiolitis aguda por VRS en los últimos años se debe al campo de la prevención.

Los objetivos del tratamiento de la bronquiolitis aguda por VRS son:

- ✓ Disminución de la morbimortalidad.
- ✓ Disminución de los costes sociales y económicos disminuyendo el número de ingresos y días de hospitalización.
- ✓ Disminución de secuelas a largo plazo (patología recurrente respiratoria y asma).

6.1. Tratamiento de soporte y de la obstrucción de la vía aérea

El manejo de la bronquiolitis aguda por VRS descansa sobre una adecuada monitorización y el tratamiento de soporte: fluidoterapia, aportes de oxígeno, desobstrucción nasal y medidas posturales.

Otras terapias ensayadas como la utilización de broncodilatadores inhalados, corticoides, suero salino hipertónico nebulizado, antibióticos, heliox nebulizado, óxido nítrico, rivabirina e inmunoglobulinas, has sido ensayados con diferentes resultados²⁸⁷.

6.1.1. Tratamiento de soporte hidroelectrolítico y suplemento de oxígeno

El manejo terapéutico básico de la bronquiolitis aguda se centra en asegurar la oxigenación e hidratación del paciente, administrando oxígeno suplementario en los pacientes hipóxicos (saturación arterial de oxígeno <92%).

Los niños con infección aguda por VRS que precisan cuidados hospitalarios han de estar monitorizados mediante pulsioximetría. La decisión de administrar oxígeno se basa en la valoración conjunta de los signos de dificultad respiratoria y la pulsioximetría. Así pues, un paciente con dificultad respiratoria grave y/o cianosis y/o saturación de oxígeno menor del 92% ha de recibir oxígeno suplementario.

Se ha de valorar el estado de hidratación y la capacidad de tomar líquidos, garantizando una adecuada hidratación, si es posible por vía oral/enteral o en su defecto por vía parenteral²⁸⁷⁻²⁹⁰. Se ha de controlar su administración para evitar una sobrehidratación con la consecuente congestión pulmonar. Niños con procesos obstructivos severos pueden presentar un síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética, y la congestión pulmonar puede agravarse por la fluidoterapia. Debido a ésto, se ha propuesto cierta restricción hídrica y pasar a alimentación oral en cuanto los síntomas se resuelvan^{291,292}.

Suele ser de utilidad fraccionar y/o espesar las tomas si se presenta dificultad para la ingesta, siendo en algunos casos necesaria la alimentación por sonda.

Las fosas nasales han de mantenerse permeables mediante lavados con suero salino fisiológico y su posterior aspiración. Se recomienda, así mismo, el aspirado de secreciones respiratorias antes de las tomas, antes de evaluar la gravedad, antes de cada tratamiento inhalado y cuando se aprecien signos de obstrucción de las vías respiratorias altas.

Se recomienda también aplicar medidas posturales, decúbito supino y ligera hiperextensión y lateralización de la cabeza, y elevar la cabecera de la cuna unos 30°.

En aquellos pacientes con hipoxia y/o hipercapnia refractaria y secundaria a una bronquiolitis aguda grave, está indicada la realización de ventilación asistida, no habiendo evidencias claras sobre la modalidad de elección. Las técnicas no invasivas (CPAP o BIPAP) se postulan como alternativa o paso intermedio antes que la ventilación invasiva, especialmente en pacientes con crisis de apnea frecuentes. La CPAP ayuda a disminuir el trabajo respiratorio, prevenir atelectasias y mejorar la distribución de gases en vías aéreas con obstrucción.

Cuando se requiere ventilación mecánica, se prefieren los modos controlados por presión, con frecuencias bajas, tiempos inhalatorios cortos, espiración prolongada y picos de presión lo más bajos posibles, para minimizar el riesgo de atrapamiento y prevenir el barotrauma, aún a expensas de la hipercapnia.

En los casos que no responden a la ventilación mecánica convencional, suele utilizarse la ventilación de alta frecuencia oscilatoria (VAFO) y ya en casos refractarios a todas las modalidades anteriores, puede ser beneficiosa la oxigenación con membrana extracorpórea (ECMO)²⁹².

6.1.2. Manejo de la obstrucción de las vías respiratorias

Se han intentado diversas medidas para manejar la obstrucción de las vías respiratorias asociadas con la infección por VRS, con diversos grados de éxito. La infección se asocia con un aumento de la producción de las células mucosas y la descamación de las células ciliadas del epitelio respiratorio. El moco y las células tienden a formar tapones, que causan atrapamiento aéreo y zonas atelectásicas. Hay una salida de líquido al intersticio pulmonar y también se produce un aumento del tono muscular liso que desencadena episodios de broncoespasmo, cuando esto ocurre, pueden ser útiles los agonistas β -adrenérgicos. Cuando domina el proceso inflamatorio, la terapia antiinflamatoria puede

ser útil. La desobstrucción mecánica o el uso de gases alternativos puede ser beneficioso cuando exista una obstrucción física de las vías aéreas.

Pero estas medidas no han demostrado una mejoría de la función pulmonar o del estado clínico.

La fisioterapia, teóricamente, podría ayudar a los pacientes a expulsar las secreciones y disminuir el esfuerzo respiratorio. En un pequeño estudio sobre los efectos de la fisioterapia respiratoria en niños hospitalizados con bronquiolitis leves-moderadas, no se demostró diferencia en la complianza, resistencia y el trabajo respiratorio antes y después de la fisioterapia²⁹³. Sin embargo no hay resultados sobre el uso de la fisioterapia en niños con atelectasias o clínica severa que precisan ventilación mecánica.

► **Broncodilatadores**

Se han investigado muchos broncodilatadores en el tratamiento de la bronquiolitis, los β_2 -agonistas tanto orales como inhalados, la combinación de α y β agonistas y los anticolinérgicos, con resultados variables²⁹¹. Los broncodilatadores son efectivos en el asma donde hay un aumento del tono muscular liso que hace que exista una obstrucción de la vía aérea. En la bronquiolitis, aunque los síntomas y signos son parecidos al asma, las razones por la que la vía aérea está obstruida son diferentes; ésta obstrucción es debida a la inflamación, edema y mucosidad, de los bronquios terminales y alveolos.

Dado que no todos los niños con bronquiolitis tienen broncoespasmo e hiperreactividad bronquial, es lógico esperar que los broncodilatadores puedan no tener eficacia en los pacientes con esta patología²⁹¹. Es más, si la obstrucción mecánica de las pequeñas vías aéreas ocurre en ausencia de broncoespasmo, la administración de broncodilatadores no

alterará el calibre de estas vías, pero relajará el músculo liso de las vías aéreas principales. La presión positiva intratorácica producida por el niño para vencer la obstrucción periférica de las vías aéreas no disminuirá, pero las vías respiratorias principales se colapsarán aún más causando un descenso en el flujo espiratorio forzado.

β_2 -agonistas inhalados (Salbutamol): En dos revisiones sistemáticas sobre los broncodilatadores en el tratamiento de la bronquiolitis se ha demostrado que mejoran discretamente las puntuaciones clínicas de niños con bronquiolitis leve y moderada, no produciendo una mejoría significativa en la saturación de oxígeno ni disminuyen el porcentaje y duración de los ingresos.

No han de ser utilizados de forma sistemática en el tratamiento de un primer episodio de bronquiolitis aguda en lactantes previamente sanos. Podría realizarse un ensayo terapéutico en niños con clínica de intensidad moderada-grave, debiendo suspenderse si en 60 minutos no se objetiva mejoría alguna ²⁸⁷.

A pesar de esto, su uso en la práctica clínica continúa estando muy extendido, y una vez iniciado rara vez se retira aunque se haya comprobado la ausencia de efectos positivos para el niño ^{287,294}.

Adrenérgicos nebulizados (Adrenalina): La justificación de su uso sería su potencial efecto vasoconstrictor mediado por los receptores alfa del árbol bronquial, que disminuiría el edema de la mucosa respiratoria y se sumaría al efecto broncodilatador beta en el alivio de la obstrucción al flujo aéreo. Las evidencias existentes sugieren que la adrenalina es algo superior a los β_2 -agonistas puros y/o placebo sin presentar efectos secundarios relevantes, mejorando la puntuación clínica, la oxigenación y la función respiratoria ^{295,296}.

No hay consenso sobre su utilización de forma rutinaria en la bronquiolitis aguda por VRS. Esto se debe a que hay un predominio de los efectos adversos y su elevado coste sobre la mejoría clínica que es pequeña y transitoria.

La guía de la Asociación Americana de Pediatría especifica que la adrenalina es el broncodilatador preferido en los servicios de urgencias y en pacientes hospitalizados, no así en el tratamiento domiciliario.

Se podría considerar la realización de una prueba terapéutica en pacientes menores de 6 meses, con clínica moderada-grave y monitorizado de forma objetiva, siendo suspendido si no se aprecia mejoría clínica.

Se puede decir que a falta de estudios más completos, la adrenalina es el agente broncodilatador de elección en el tratamiento de la bronquiolitis aguda.

Anticolinérgicos (Bromuro de Ipratropio): Los estudios sobre el uso de agentes anticolinérgicos solos o en combinación con β_2 -agonistas no han demostrado efectos beneficiosos en el tratamiento de la bronquiolitis aguda²⁹⁷⁻³⁰⁰.

► **Corticoides**

Existen numerosas revisiones y estudios aleatorios controlados que demuestran que los corticoides, inhalados o por vía sistémica, no proporcionan beneficios clínicos ni en la fase aguda ni en su posterior evolución, pudiendo presentar efectos secundarios bien documentados (hipoglucemia, inmunosupresión)³⁰¹⁻³⁰⁴.

►Antibióticos

Existen evidencias de que la infección VRS no predispone a la sobreinfección bacteriana³⁰⁵, con lo que el uso de antibióticos de forma rutinaria carece de efectos beneficiosos, no solo en la bronquiolitis sino también en la neumonía VRS³⁰⁶. Su utilización sólo está justificada ante la presencia de un foco bacteriano documentado (otitis media aguda, sinusitis o neumonía)³⁰⁷.

►Ribavirina

Es el único tratamiento específico de la bronquiolitis aguda por VRS, puesto que es un agente antivírico para las infecciones por VRS.

Es un análogo nucleósido, que aunque en el año 1996 se indicaba su uso en niños con infección VRS grave y/o que precisaba intubación mecánica, así como en niños que presentaban factores de riesgo, posteriormente en 2003 no se recomendó por no existir evidencias de que pudiese mejorar clínicamente y/o reducir la mortalidad en estos niños³⁰⁷, así mismo se ha visto ineficaz en la disminución de la ventilación mecánica y/o el tiempo de estancia en pacientes que requieren intubación; teniendo que sumar a ésto su alto coste y su potencial teratogenicidad en embarazadas.

Los estudios realizados presentan muchas limitaciones, siendo necesarios nuevos estudios de alta calidad que clarifiquen el papel de la ribavirina en pacientes con bronquiolitis aguda de alto riesgo y/o graves³⁰⁸.

►Suero salino hipertónico nebulizado

Es útil y eficaz en el manejo del paciente con bronquiolitis aguda ya que tiene escasos efectos adversos, su coste es mínimo y se ha visto una mejoría en los tres primeros días de tratamiento, una disminución

del número de días de hospitalización y una potencial disminución del número de casos que precisan hospitalización.

Los mecanismos de actuación del suero salino hipertónico nebulizado son diversos:

- Rompe los enlaces iónicos dentro del gel de moco.
- Provoca un flujo osmótico hacia el interior de la capa de moco.
- Estimula la movilidad ciliar mediante la liberación de Prostaglandina E₂.
- Reduce el edema de la pared, al absorber agua de la mucosa y submucosa.
- Induce la tos y el esputo.

Se recomienda un uso pautado de 2-4 ml con dosis repetidas cada 8 horas o más frecuentes, durante 5 días.

Dado que el efecto secundario teórico del suero salino hipertónico nebulizado es el broncoespasmo agudo, actualmente se considera el uso simultáneo con broncodilatadores (salbutamol o adrenalina), siendo éstos vehiculados en suero salino hipertónico cuando se plantea su uso³⁰⁹.

► Heliox

El heliox es una mezcla gaseosa de helio y oxígeno de menor densidad que el aire; la mezcla más habitual es la proporción 79% de helio y 21% de oxígeno. Al sustituir el nitrógeno del aire por helio disminuyen las resistencias en las grandes y medianas vías respiratorias donde el flujo es turbulento y por tanto densidad dependiente, así mismo, se necesita menos energía mecánica para la ventilación pulmonar. Se ha empleado con éxito en el tratamiento sintomático de múltiples enfermedades respiratorias de tipo obstructivo.

Algunos estudios observaron que su aplicación en pacientes con bronquiolitis aguda leve o moderada mejoraba el estado respiratorio de estos pacientes, y de forma más marcada en los niños con mayor compromiso respiratorio, pero la muestra era pequeña y no homogénea, parte de los pacientes no fueron aleatorizados y no se consideraron los efectos a medio y largo plazo.

Otro estudio prospectivo realizado por *Martinón et al.*, observó que la administración de heliox en lactantes previamente sanos con bronquiolitis aguda mejoraba de forma significativa el estado respiratorio de los pacientes, estimado mediante una escala clínica, en relación con los controles²⁸⁷.

Se podría considerar como tratamiento selectivo en bronquiolitis agudas moderadas-graves, utilizando mascarilla con reservorio y de forma continua con una concentración 70/30, ya que es un gas inerte cuyo efecto persiste sólo mientras se administra, pudiendo en ciertos casos refractarios ser asociado a CPAP³¹⁰.

En resumen, el heliox puede mejorar el intercambio gaseoso, la ventilación pulmonar y, debido a su alto coeficiente de difusión, también la eliminación de CO₂.

► **Surfactante**

Niños con bronquiolitis graves pueden tener alteraciones cualitativas y cuantitativas en el surfactante³¹¹⁻³¹⁴. El surfactante es un componente tensoactivo compuesto por proteínas y fosfolípidos que se produce en los neumocitos tipo 2, que disminuye la tensión superficial, previniendo el colapso de las pequeñas vías respiratorias; una disfunción de éste puede agravar los efectos del VRS en el árbol bronquial³¹¹.

De sus cuatro componentes proteicos (A, B, C y D), dos de ellos (A y D) tienen la capacidad de unirse a marcadores de superficie de bacterias y virus, facilitando su eliminación por el sistema inmune³¹⁵.

El surfactante parece prevenir el progresivo deterioro de la función pulmonar, los niños que fueron tratados con él experimentaron una mejoría más rápida tanto en los índices de oxigenación como en los índices de ventilación a las 60 horas de iniciar el estudio, así mismo estos niños tuvieron menores tiempos de estancia en unidades de cuidados intensivos^{311,316}.

Por tanto, ha de considerarse su uso selectivo en pacientes con bronquiolitis aguda grave que precisen ventilación mecánica.

► **Metilxantinas**

Aproximadamente el 20% de los niños ingresados con bronquiolitis aguda padecen alguna forma de apnea. En estos casos de bronquiolitis con apnea en neonatos y/o lactantes con antecedente de prematuridad, el uso de metilxantinas (teofilina y cafeína) podría estar justificado aunque no hay ningún consenso al respecto³¹⁷.

► **Óxido nítrico**

No existe evidencia de que el uso de óxido nítrico sea beneficioso ni por su efecto como vasodilatador pulmonar ni por su efecto broncodilatador, quedando su uso relegado a bronquiolitis graves refractarias a ventilación mecánica convencional.

En resumen se puede decir que el tratamiento de la bronquiolitis, más allá del tratamiento de soporte, ha de ser un tratamiento individualizado. La bronquiolitis en los niños es una patología compleja, con muchas variables que pueden afectar al manejo del paciente, como

la edad, el estado de la infección cuando se inicia el tratamiento de soporte, la severidad de la enfermedad y la localización y el grado de obstrucción de la vía aérea. Es importante una cuidadosa valoración y el tratamiento de soporte con fluidos y oxígeno está universalmente aceptado y reconocido.

6.2. Tratamiento preventivo

6.2.1 Inmunoterapia

La inmunoglobulina enriquecida con anticuerpos frente a VRS para uso humano (IgIV-VRS), con capacidad de neutralizar *in vitro* las cepas subtipo A y B del virus, y los anticuerpos monoclonales humanizados frente al VRS (palivizumab) presentan una eficacia demostrada en la prevención de la infección aguda en lactantes de alto riesgo³¹⁸, pero su papel en la infección ya establecida ha sido menos estudiados.

Diversos estudios demuestran que tanto la IgIV-VRS como la gammaglobulina inespecífica intravenosa o en aerosol carecen de eficacia en el tratamiento de la bronquiolitis aguda en lactantes previamente sanos, cuantificado en términos de duración de estancia hospitalaria, tiempo de ventilación mecánica o duración del tratamiento con oxígeno suplementario^{319,320}.

Existen evidencias limitadas sobre el uso de IgIV-VRS en pacientes con bronquiolitis grave que precisan ventilación mecánica, con una discreta tendencia a disminuir el tiempo de estancia en unidades de cuidados intensivos²⁸⁷. Además, en todos los estudios se destacan los inconvenientes de la infusión intravenosa y la sobrecarga de volumen (15 ml/Kg), especialmente en pacientes con broncodisplasia pulmonar y en las cardiopatías cianógenas (contraindicado específicamente). Comparando beneficios con riesgos, el balance es desfavorable, máxime con la disponibilidad, eficacia y seguridad de los anticuerpos

monoclonales, aún siendo estos últimos una medicación económicamente más cara.

El palivizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado de IgG1, diseñado por ingeniería genética, que inhibe específicamente el epítipo del sitio antigénico A de la glucoproteína F del VRS. Neutraliza al VRS e inhibe la fusión entre el virus y las células del epitelio respiratorio. En el modelo de rata de algodón se ha observado que este anticuerpo es de 50 a 100 veces más potente que una cantidad equivalente de IgIV-VRS, siendo más efectivo y más seguro. Su administración es intramuscular, es bien tolerado y presenta pocos efectos locales. No está indicado el palivizumab en el tratamiento de la enfermedad por VRS una vez establecida, aunque se han descrito algunas experiencias de su uso en pacientes infectados por VRS, sobretodo inmunodeprimidos y trasplantados, pero por el momento no se dispone de ensayos clínicos que aporten una evidencia clara de su uso en estos pacientes^{321,322}.

Por su elevado coste, el tratamiento con palivizumab debería indicarse de forma muy selectiva en población de alto riesgo (lactantes con antecedente de prematuridad, con o sin enfermedad pulmonar crónica asociada y lactantes con cardiopatías congénitas), que es donde se detecta una tasa de ingreso más alta y la gravedad de la enfermedad es mayor.

El estudio IMPact, realizado en prematuros con o sin displasia broncopulmonar, demostró la eficacia del palivizumab para reducir la incidencia de hospitalizaciones debidas al VRS, siendo bien tolerado por lactantes de alto riesgo³²³, también estudios del grupo IRIS (cohorte de prematuros \leq 32 SEG) demuestran una variación de hasta un 70% menos de ingresos en pacientes que recibieron el palivizumab³²⁴. A raíz de este estudio han aparecido recomendaciones de la Academia Americana de Pediatría³²⁵ y de reuniones de consenso tanto europeas³²⁶

como españolas³²⁷, estando aprobado su utilización para la realización de profilaxis de la infección VRS en niños que cumplan criterios de alto riesgo (no en el tratamiento de la enfermedad ya establecida).

Un estudio multicéntrico internacional sobre la hiperreactividad bronquial en prematuros menores de 35 semanas de edad gestacional, muestran tras su primer año de seguimiento una reducción del número de episodios de hiperreactividad bronquial y de hospitalizaciones por causas respiratorias en aquellos pacientes que habían recibido inmunoprofilaxis para el VRS frente los que no la habían recibido⁶⁹.

6.2.2. Vacunación frente al VRS

El VRS es un candidato de primera clase para el desarrollo de una vacuna, y dado que la mayor morbi-mortalidad ocurre en la infancia, se necesita una vacuna que pueda ser administrada a individuos muy jóvenes. Los intentos por desarrollar una vacuna efectiva y segura han sido influidos de forma negativa por muchos factores, entre los cuales se encuentran la respuesta inmune del recién nacido y lactante, la supresión de la respuesta inmune por los anticuerpos maternos, y la experiencia con una vacuna probada en 1960 que resultó potenciar la enfermedad VRS³²⁸.

Uno de los principales objetivos del programa de vacunación VRS es prevenir la infección del tracto respiratorio inferior, las hospitalizaciones y las muertes asociadas con la infección por VRS. Los beneficios indirectos de un buen programa de vacunación deberían reflejarse en la disminución de las complicaciones secundarias como la otitis media, la sinusitis y la infrecuente sobreinfección bacteriana pulmonar.

Para que una vacuna sea efectiva, ésta ha de actuar frente a todas las cepas de VRS circulantes durante un brote. La respuesta inmune estimulada ha de ser frente a los principales grupos antigénicos, el A y

el B^{328,329}. Una vacuna efectiva ha de estimular una robusta respuesta humoral, secretora y celular de suficiente magnitud como para proteger la mucosa respiratoria, pero que no sea tan robusta como la que produce la infección natural en individuos adultos sanos.

Aunque aún no se puede disponer de una licencia para una vacuna preventiva frente al VRS, ha habido un progreso significativo en el desarrollo y evaluación de ambas candidatas, la vacuna de subunidades (diseñadas para inducir una respuesta con anticuerpos neutralizantes capaz de proteger las vías respiratorias bajas) y la vacuna de virus atenuados^{328.330}.

-Vacunas de subunidades: Las vacunas de subunidades están diseñadas para inducir una respuesta con anticuerpos neutralizantes capaz de proteger las vías respiratorias bajas. Estas vacunas de subunidades son por lo general seguras en individuos sanos (previamente infectados), a la vez que disminuyen los problemas respiratorios durante la infección por VRS. Las actuales vacunas de subunidades no inducen una fuerte respuesta linfocítica T citotóxica³³¹.

-Inmunización primaria con vacunas vivas atenuadas: Es fundamental para una cepa vírica candidata para vacuna VRS viva mantener una estabilidad genética ya que la atenuación, realizando un número relativo de pequeños cambios en nucleótidos y aminoácidos³²⁸, ha de ser segura para los niños y ha de crear una inmunogenicidad suficiente para protegerlo frente a la infección natural.

Las ventajas potenciales de las vacunas vivas atenuadas incluyen la generación tanto de inmunidad a nivel local como sistémico, la posibilidad de ser administradas en múltiples ocasiones y la posibilidad de actuar en presencia de anticuerpos maternos. De todos modos, actualmente se sigue investigando en este camino con las cepas

mutadas por ingeniería genética, para conseguir la creación de vacunas para uso en niños que sean atenuadas, inmunogénica y genéticamente estables y no transmisibles³²⁸.

-Vacuna mucosa de expresión genética (MGXV): Recientemente se ha estudiado como vacuna frente al VRS al plásmido DNA (pDNA) codificador de antígenos VRS. Esta vacuna pDNA tiene como ventajas su facilidad de uso y preparación, su estabilidad y resistencia al calor, su obtención de forma prácticamente ilimitada y su capacidad para inducir tanto la inmunidad humoral como la inmunidad celular³³¹.

La MGXV es una vacuna protectora de la mucosa en la que se usa una mezcla de DNA complementario de VRS. Esta mezcla vacunal está producida por la clonación de nueve antígenos VRS (NS1, NS2, M, SH, F, M2, N, G ó P) en un plásmido pVAX. Para administrar la vacuna vía mucosa, la mezcla se vehicula en un polisacárido catiónico natural biocompatible obtenido de conchas de crustáceos llamado citosan, que no es tóxico, ni hemolítico, si mínimamente inmunógeno, lentamente biodegradable y nucleasa resistente. Además el citosan puede tener efectos beneficiosos como poseer actividad inmunoestimuladora y anticoagulante, además de poseer propiedades cicatrizantes y antimicrobianas³³².

La seguridad y eficacia de la MGXV ha sido probada en modelos de laboratorio de infección VRS. La MGXV parece inducir una disminución de la inflamación pulmonar que acompaña a la infección aguda por VRS. Ciertos estudios realizados, indican que la vacuna MGXV parece reducir la infiltración celular y el daño epitelial, mientras protege frente la infección VRS. Ésta parece ser la causa más probable de por qué la vacuna MGXV hace disminuir los títulos virales, limitando la extensión de la infección y en consecuencia la inflamación inducida por el virus³³². Aún son necesarios más estudios que permitan aceptar su utilización.

III. OBJETIVOS

1. Objetivos generales

Realizar una revisión actualizada de los casos de VRS diagnosticados en el Laboratorio de Virología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid y su área de influencia durante un periodo de 11 años comprendido entre 1990 y el año 2000, valorando su evolución en el tiempo, la carga asistencial y clínica, así como las implicaciones diagnósticas.

2. Objetivos específicos

1. Realizar una revisión actualizada de los casos de VRS diagnosticados en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid y su área de influencia durante el periodo 1990-2000.
2. Analizar la distribución etaria y la distribución por géneros de la infección.
3. Analizar la procedencia clínica de los casos y tratar de estimar la incidencia de la infección en la población que atiende el Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
4. Describir la curva epidémica anual de casos y la relación que guarda con la temperatura media mensual registrada en la ciudad.
5. Describir los cuadros clínicos que motivan la solicitud diagnóstica.
6. Establecer el rendimiento de los diferentes métodos diagnósticos disponibles en función de la edad del paciente, el género y el tipo de proceso clínico.
7. Describir mediante un muestreo aleatorio una serie de pacientes pediátricos atendidos y diagnosticados en nuestro entorno ambiental.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Material

El estudio está dividido en dos partes, en la primera parte se tomaron como fuente de datos los casos que fueron diagnosticados como positivos para VRS en el departamento de Microbiología del Hospital Clínico Universitario (HCU) de Valladolid durante el periodo de 11 años comprendido entre 1990 y el año 2000.

Estos datos se obtuvieron a partir de las declaraciones sobre el diagnóstico etiológico de enfermedades o síndromes infecciosos que el Hospital Clínico Universitario de Valladolid remite semanalmente al Centro Nacional de Epidemiología dependiente del Instituto de Salud Carlos III de Madrid y que corresponden a los casos diagnosticados y tratados en el Hospital y su área de influencia a través de las solicitudes de análisis virológico recibidas en el Servicio de Microbiología de dicho Hospital.

En la segunda parte, de los casos diagnosticados positivos para infección VRS, se procedió a tomar una muestra aleatoria en la que se realizó una revisión de forma retrospectiva de las historias clínicas, perteneciendo todos los casos de la muestra al Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

2. Medio

El área de influencia del HCU abarca la población que depende directamente del Hospital y la población de los Centros de Salud de Atención Primaria pertenecientes al Área de Salud Este de Valladolid (urbano y rural). Desde el año 1991 también se incorpora la población del Hospital Comarcal de Medina del Campo (HCMC, Valladolid).

Los datos que muestra la Tabla 1, en la que se puede observar la evolución de la población dependiente del HCU en este periodo de 11 años, han sido suministrados por la Dirección Territorial del Instituto Nacional de Salud y hasta el año 1993 los datos referentes a población pediátrica, cuyos criterios de inclusión fueron variables puesto que durante ese periodo no había uniformidad en los criterios de inclusión de los menores, utilizándose por un lado los cupos para los Hospitales en los que se incluían a los menores de 7 años, mientras que en los Centros de Salud se contabilizaban como población pediátrica todos los niños menores de 14 años. A partir de 1994 los datos referentes a edad pediátrica han sido obtenidos gracias a los registros de las tarjetas sanitarias pertenecientes a los pacientes menores de 14 años procedentes de los Centros de Atención Primaria del Área de Salud Este de Valladolid. En dicha tabla puede observarse una disminución progresiva tanto de la población total como de la población pediátrica, disminuyendo en ésta en ambos medios.

Si dividimos la población pediátrica en grupos de edad (Figura 1), uno compuesto por los niños de cero a dos años y otro de los 3 a los 14 años, se puede apreciar un ligero incremento de la proporción del grupo de población de 0-2 años con respecto al otro a lo largo de los 7 años que ha podido recogerse la población infantil por separado, situándose la media en el 15.7% (mín 13.26%-Máx 17.93%).

Si a la comparación anterior añadimos el medio de procedencia (rural o urbano) de los pacientes como variable (Figuras 2 y 3), se puede observar una disminución progresiva de la población total infantil en ambos medios, siendo la disminución en el medio rural menos llamativa, quizás por el aumento de población joven que se desplaza a vivir al alfoz de la ciudad de Valladolid. Destaca así mismo, en proporción, un aumento de la población infantil de 0-2 años en ambos medios.

Todo lo anterior se puede observar mejor en la Tabla 2, aunque la población pediátrica disminuye en ambos ámbitos, si nos referimos a la proporción de la población que vive en medio urbano, ésta disminuye a lo largo de los años pasando de un 73% de la población general al inicio del periodo a un 72.5% al final del mismo, mientras que la proporción de la población pediátrica que vive en el medio rural va en ligero aumento pasando de un 26.6% a un 27.5%. Si hablamos en términos generales, en ambas poblaciones hay un descenso, algo más acusado en la población urbana en el periodo estudiado; la población infantil urbana disminuye un 20.7%, mientras que la rural lo hace en un 14.6%. Así mismo, se observa un aumento proporcional de la población perteneciente al grupo de 0-2 años respecto al otro grupo, tanto en el medio urbano como en el rural, llegando a presentar su máximo en el último año incluido en el estudio.

Tabla 1.-Población total y población pediátrica en el periodo 1990-2000 en el área de influencia del HCU de Valladolid.

	Población	Población Pediátrica		
	Total	Urbana	Rural	Total
1990	221.482			
1991	283.198			19.213
1992	286.142			17.020
1993	286.817			28.170
1994	286.446	24.507	8.637	33.144
1995	286.446	22.332	8.457	30.789
1996	286.446	22.453	8.104	30.557
1997	269.808	21.969	8.190	30.159
1998	270.300	20.793	8.034	28.827
1999	269.200	20.112	7.822	27.934
2000	268.223	19.425	7.377	26.802

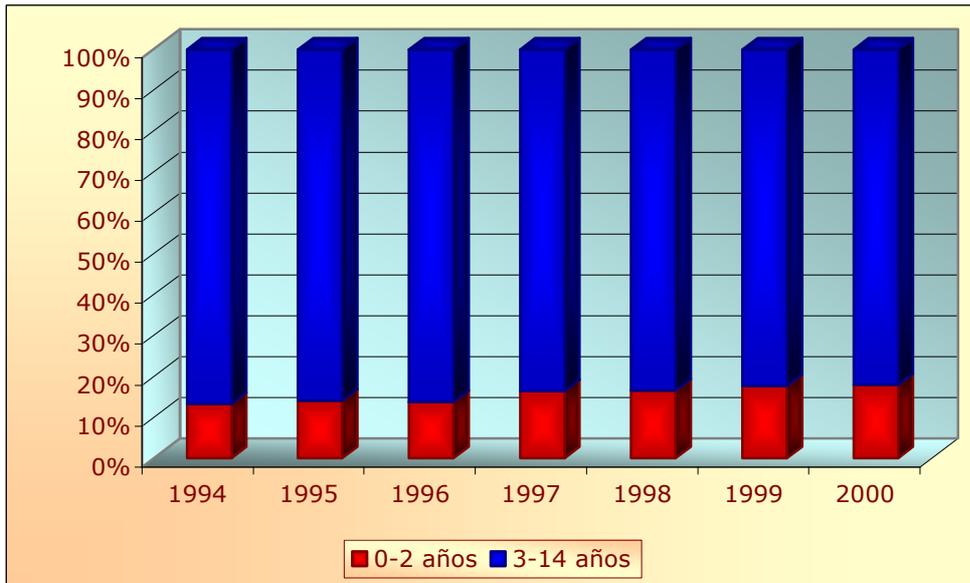


Figura 1-Edad apilada de la población pediátrica total dependiente del HCU el periodo 1994-2000.

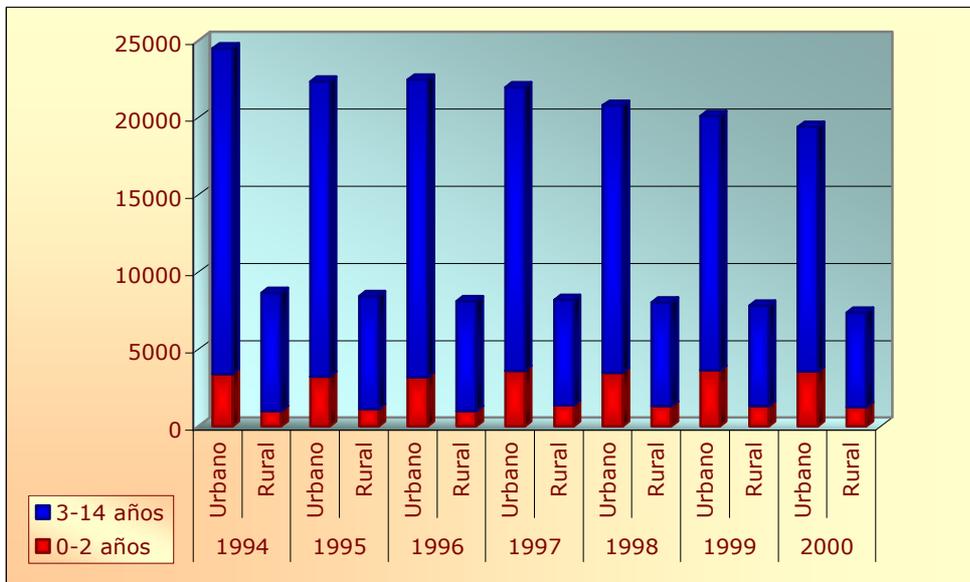


Figura 2- Población pediátrica dependiente del HCU de Valladolid en el periodo 1994-2000 según el medio de procedencia (columnas apiladas).

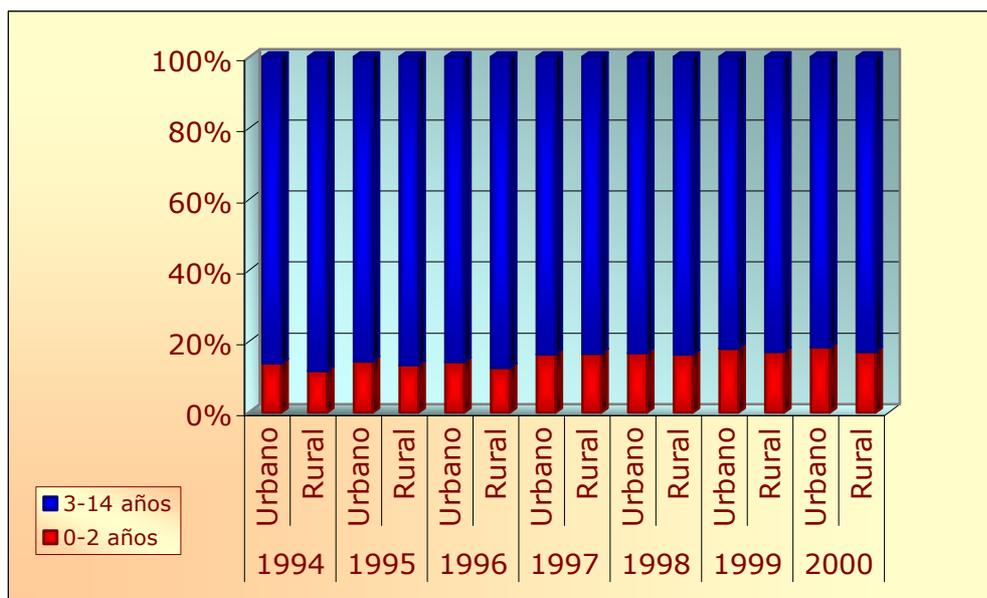


Figura 3-Población pediátrica dependiente del HCU de Valladolid en el periodo 1994-2000 según el medio de procedencia (columnas apiladas).

Tabla 2.-Población pediátrica dependiente del HCU de Valladolid según su procedencia y separada en grupos de edad en el periodo 1994-2000.

		0-2 años	3-14 años	Total	
1994	Urbano	3387 (13.8%)	21120 (86.2%)	24507 (73.4%)	33144
	Rural	1011 (11.7%)	7262 (88.3)	8637 (26.6%)	
1995	Urbano	3224 (14.4%)	19108 (85.6%)	22332 (72.5%)	30789
	Rural	1120 (13.2%)	7334 (86.4%)	8454 (27.5%)	
1996	Urbano	3187 (14.2%)	19266 (87.5%)	22453 (73.5%)	30557
	Rural	1015 (12.5%)	7089 (87.5%)	8104 (26.5%)	
1997	Urbano	3610 (16.4%)	18359 (83.6%)	21966 (72.8%)	30159
	Rural	1358 (16.8%)	6832 (83.2)	8190 (27.2%)	
1998	Urbano	3483 (16.8%)	17310 (83.2%)	20793 (72.1%)	28827
	Rural	1312 (16.3%)	6722 (83.7%)	8034 (27.9%)	
1999	Urbano	3626 (18.0%)	16486 (82.0%)	20112 (72.0%)	27934
	Rural	1330 (17.0%)	6492 (83.0%)	7822 (28.0%)	
2000	Urbano	3543 (18.2%)	15882 (81.8%)	19425 (72.5%)	26802
	Rural	1263 (17.1%)	6114 (82.9%)	7377 (27.5%)	

El HCU durante este periodo de tiempo de 11 años presentó una media de 1307,72 partos por año, con un mínimo de 1137 y un máximo de 1479 partos. El total de nacidos vivos varió entre 1157 y 1447, con una media de 1318,54. Y el total de recién nacidos mostró una media de 1325,63 nacidos al año, variando entre 1160 y 1493 nacidos (Tabla 3).

Tabla 3.-Partos y Recién Nacidos en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

	Partos totales	Nacidos vivos	Nacidos totales
1990	1344	1344	1349
1991	1422	1433	1438
1992	1479	1483	1493
1993	1442	1447	1458
1994	1385	1396	1407
1995	1256	1265	1252
1996	1230	1236	1239
1997	1254	1279	1288
1998	1137	1157	1160
1999	1212	1224	1229
2000	1224	1238	1249

La ciudad de Valladolid se encuentra en el centro de la meseta septentrional, en un valle entre la confluencia de los ríos Pisuerga y Esgueva rodeado por pequeños cerros, a una altitud de 691 metros sobre el nivel del mar. Presenta un clima continental con temperaturas extremas tanto en invierno como en verano, con otoños y primaveras cortos. Dada su particular climatología se recopilieron los datos sobre la temperatura y humedad acaecidos durante los 11 años correspondientes al estudio, siendo éstos facilitados por el Ministerio de Medio Ambiente, Instituto Nacional de Meteorología a través del Centro Meteorológico Territorial en Castilla y León, medidos en su observatorio de Valladolid. Los meses con temperaturas (Tabla 4) más bajas

correspondieron a los comprendidos entre Noviembre y Febrero con medias que varían entre 4.5 y 7.7°C, mientras que los más calurosos fueron los meses de Junio a Septiembre con temperaturas medias comprendidas entre 18.1 y 22.5°C. Casi de forma superponible puede hablarse de la humedad (Tabla 5), los meses más húmedos fueron de Noviembre a Febrero, con medias del 72 a 84%, y los más secos de Junio a Septiembre, entre 47 y 59%.

Tabla 4.-Temperatura media mensual y anual (grados centígrados) registrada en Valladolid en el periodo 1990-2000.

	Ene	Feb	Mrz	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Media
1990	3.8	9.3	9.8	9.2	15.7	19.8	23.7	23.2	20.6	13.2	6.4	3	13.1
1991	3.9	4.4	8.9	9.3	13.1	19.3	22.6	24.1	19.8	10.7	7.6	4.7	12.4
1992	2	5.3	8.8	11.3	16.8	15.5	23.1	22.6	17.7	10.9	8.9	5.6	12.4
1993	2.3	5.3	8.3	10	13.6	18.7	21.1	22.2	15.5	10.1	6.4	6.3	11.6
1994	4.1	5.7	10.9	9.6	14.6	18.9	24.2	23	15.9	13.6	9.4	6.1	13
1995	5.6	7.4	9.1	12.2	16.5	19.6	23.3	22.2	15.7	15.9	9.9	6.4	13.6
1996	7	4.8	8.6	11.5	13.4	20.1	22.3	20.6	16.7	13	8.3	5.6	12.7
1997	4.8	8.6	12	13.6	14.9	16.9	20.5	22.6	20.2	15.6	8.8	5.6	13.7
1998	6.2	8.1	11.1	9.5	14.3	19.4	22.4	23.2	18.6	12.3	7.6	3	13
1999	3.8	5.3	8.6	11.3	16.2	19.4	23.4	22.1	18.3	13.3	5.6	4.6	12.7
2000	1.9	8.3	9.3	9.3	15.6	20	20.9	21.3	18.6	12.5	7.2	7.4	12.7
Media	4.5	6.4	9.6	10.7	14.8	19.6	22.4	22.5	18.1	13	7.7	5.1	20.7

Tabla 5.-Humedad media (%) mensual y anual registrada en Valladolid en el periodo 1990-2000.

	Ene	Feb	Mrz	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Media
1990	89	77	58	67	60	52	42	43	55	69	86	80	65
1991	81	77	71	61	52	50	48	42	55	69	73	79	63
1992	78	62	55	53	53	59	43	46	55	77	85	88	63
1993	92	68	63	63	65	56	44	45	64	79	81	87	67
1994	83	72	65	59	63	50	44	47	62	74	83	86	66
1995	79	77	59	51	54	49	50	50	63	66	78	85	63
1996	82	74	68	67	67	53	45	53	58	68	76	86	66
1997	87	73	52	57	62	58	56	54	59	69	83	86	66
1998	81	73	58	67	62	54	47	46	58	68	74	84	64
1999	81	69	61	62	64	53	49	55	63	76	81	87	67
2000	82	72	59	75	69	47	47	46	52	70	83	81	65
Media	83	72	61	62	61	53	47	48	59	71	80	84	65

3. Diseño del estudio

3.1 Primera parte

Se diseña un estudio descriptivo retrospectivo, siendo llevado a cabo de forma que las conclusiones puedan ser extrapoladas a la población de la ciudad de Valladolid y su provincia.

El procedimiento de recogida de datos se realizó de forma manual a partir de la información existente en los protocolos de la Sección de Virología antes de ser incorporada al programa informático. En ninguna circunstancia se excluyeron casos por razones de edad, gravedad clínica, sintomatología acontecida durante la infección o método diagnóstico empleado.

Se han recogido un total de 427 casos a lo largo de los 11 años de revisión, fechados y distribuidos según su número de entrada en el Laboratorio de Microbiología, la edad, el sexo, el método diagnóstico

utilizado y la sintomatología clínica que se reflejaba en el volante de petición diagnóstica.

Una vez que estos datos fueron recogidos, se ampliaron utilizando los cuadernos de registro y de protocolos diagnósticos del Departamento de Microbiología, obteniendo el nombre y procedencia del paciente, la unidad y el médico que remite el caso y el número de historia hospitalaria de cada uno de los pacientes a los que pertenecían las muestras.

3.2. Segunda parte

De los casos positivos de la parte anterior, se procedió a tomar una muestra aleatoria al azar de 95 casos, de los cuales se realizó, de forma retrospectiva, una revisión de las historias clínicas. El procedimiento de recogida de datos se hizo de forma manual accediendo a cada una de las historias clínicas, anotando de forma sistemática variables establecidas de antemano en una ficha personal de cada caso, tales como: edad, sexo, procedencia, vía de ingreso, días de estancia, tratamiento previo, ingreso previo, diagnóstico, pruebas de imagen, técnicas diagnósticas de laboratorio, complicaciones, tratamiento hospitalario y antecedentes personales tales como edad gestacional, tipo de alimentación, hermanos, ambiente catarral en el entorno familiar.

En lo referente al registro de las técnicas empleadas en los diagnósticos, para cada paciente se contabilizaron únicamente las técnicas utilizadas que tuvieron un resultado positivo.

A lo largo del periodo durante el que se realizó el estudio, el laboratorio de virología empleó un conjunto de técnicas diagnósticas que se enumeran a continuación:

1990 Diagnóstico directo: Detección de VRS por inmunofluorescencia directa (bioMérieux® direct IF).

Diagnóstico indirecto: Detección de anticuerpos por reacción de fijación del complemento (FC).

1991, 1992 Diagnóstico directo: Detección de VRS por inmunofluorescencia directa (bioMérieux® direct IF).

Detección de VRS mediante enzimoimmunoensayo (Abbott® RSV EIA, Kallestad EIA).

Diagnóstico indirecto: Detección de anticuerpos por reacción de fijación del complemento (FC).

1993/2000 Diagnóstico directo: Detección de VRS por inmunofluorescencia directa (bioMérieux® direct IF).

Detección de VRS mediante enzimoimmunoensayo (Abbott® RSV EIA, Kallestad EIA).

Detección por cultivo celular e identificación con anticuerpos monoclonales específicos anti-VRS.

Diagnóstico indirecto: Detección de anticuerpos por reacción de fijación del complemento (FC).

Debido a las peculiaridades de la toma de muestras para la detección del VRS, el diagnóstico microbiológico se realizó mediante una o varias de las técnicas anteriormente mencionadas, aplicadas de forma simultánea o secuencial.

4. Tratamiento informático de los datos

El material de trabajo ha sido incorporado de forma simultánea en una Base de Datos Microsoft® Office Access 2003 y una Hoja de Cálculo Microsoft® Office Excel 2003.

Para su análisis estadístico se ha utilizado el programa SAS® para el sistema operativo Windows 9 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Las gráficas que aparecen en el texto han sido realizadas utilizando el programa Microsoft® Office Excel 2003 y las tablas se han elaborado mediante el procesador de textos Microsoft® Office Word 2003.

V. RESULTADOS

1. Resultados de la actualización de los casos VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid durante el periodo 1990-2000

1.1. Pacientes

1.1.1. Distribución etaria

Durante el estudio se han logrado recoger las edades de un total de 248 casos de los 427 casos diagnosticados, lo cual supone un 58.1%, que se anotaron como meses cumplidos en el rango de 1 a 36 meses y como años cumplidos para el resto de las edades.

La Figura 4, en la que se representa la distribución etaria de los casos de las infecciones por VRS diagnosticados en el Hospital Clínico Universitario (HCU) de Valladolid entre los años 1990 y 2000, refleja una clara tendencia a aparecer en las edades más tempranas de la vida, en pacientes menores del año con especial incidencia en los ≤ 6 meses, para en edades posteriores descender rápidamente tanto el número de casos como su relevancia clínica y diagnóstica. La edad en la que se presentó una mayor incidencia de casos fueron los 2 meses de vida, con 26 (10.5%) casos diagnosticados, seguida por el mes de vida con 25 (10%) casos y los 3 meses de vida con 23 (9.3%) casos diagnosticados; por último están los grupos de 4 meses, 6 meses y 12 meses de vida, cada uno de ellos con 20 (8%) casos diagnosticados.

En las Figuras 5 y 6 se muestran los casos diagnosticados en cada grupo de edad. El grupo de menores de 3 años supuso el 94% del total (IC_{95%} 90%-96%) según la siguiente distribución: menores de 6 meses 52.4% (IC_{95%} 46%-59%); entre 6 y 12 meses un 30.6% (IC_{95%} 25%-37%); entre 12 y 36 meses un 10.9%. El grupo de 4 á 14 años contaba con 6 casos (2.4%) y el grupo de mayores de 15 años contaba con 9

casos (3.6%), de los cuales 7 pertenecían a pacientes mayores de 55 años.

La Figura 7 corresponde con la distribución etaria acumulada de los casos. En ella se ve como el número de casos desciende de forma muy significativa con una pendiente pronunciada en los cinco primeros rangos, hasta el año de edad, haciéndose luego las diferencias entre unos y otros grupos menos significativas. Se puede apreciar que no existe ningún grupo de edad que esté completamente protegido frente la infección por VRS, si bien entre todos los casos revisados no se han encontrado diagnósticos positivos entre los 11 años y los 39 años de vida.

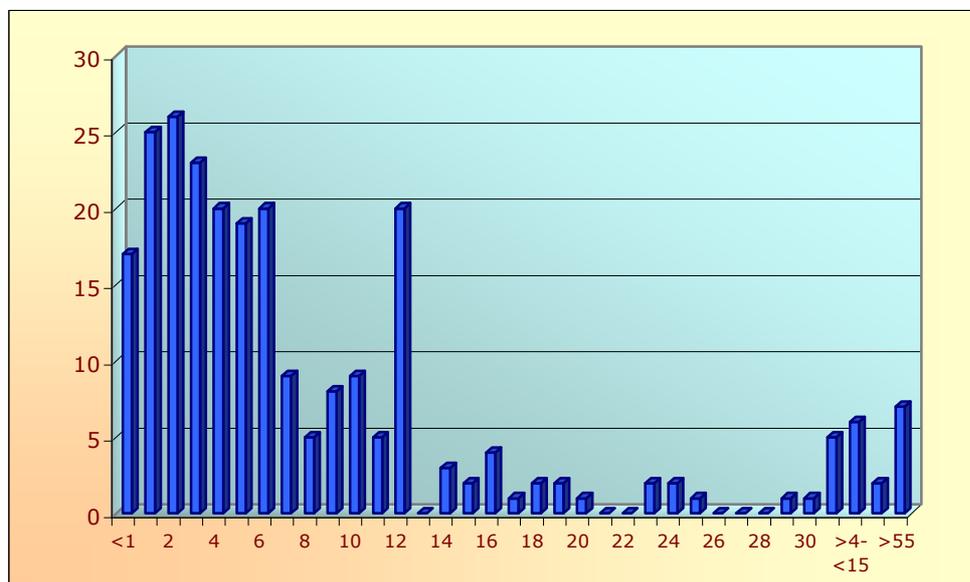


Figura 4- Distribución etaria de los casos de VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

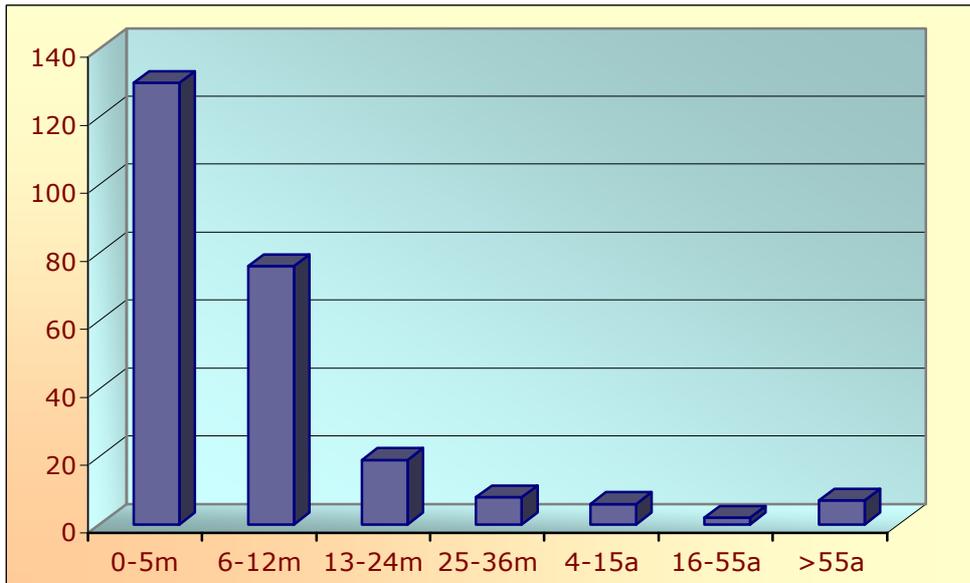


Figura 5-Distribución por grupo de edad de los casos de VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

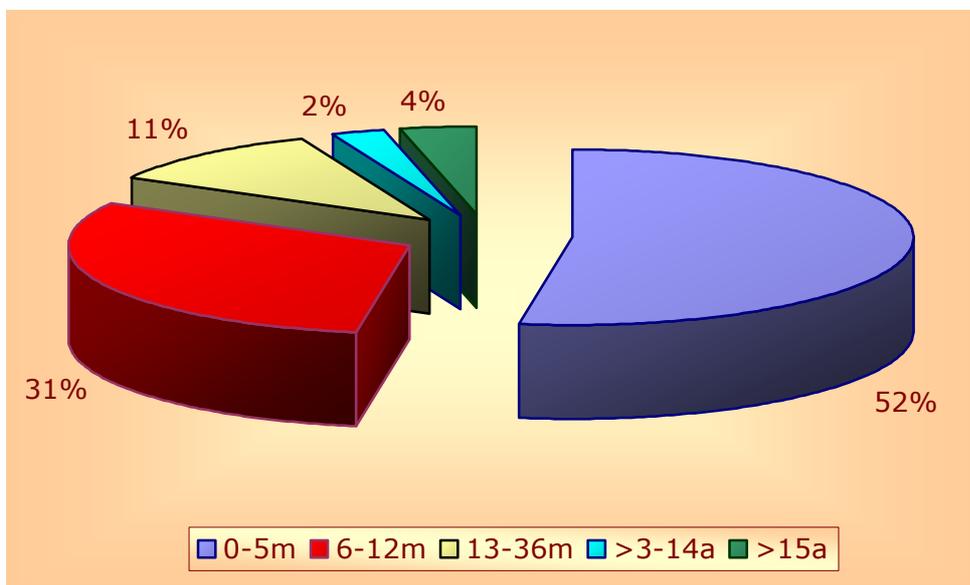


Figura 6-Distribución porcentual por grupo de edad de los casos de VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

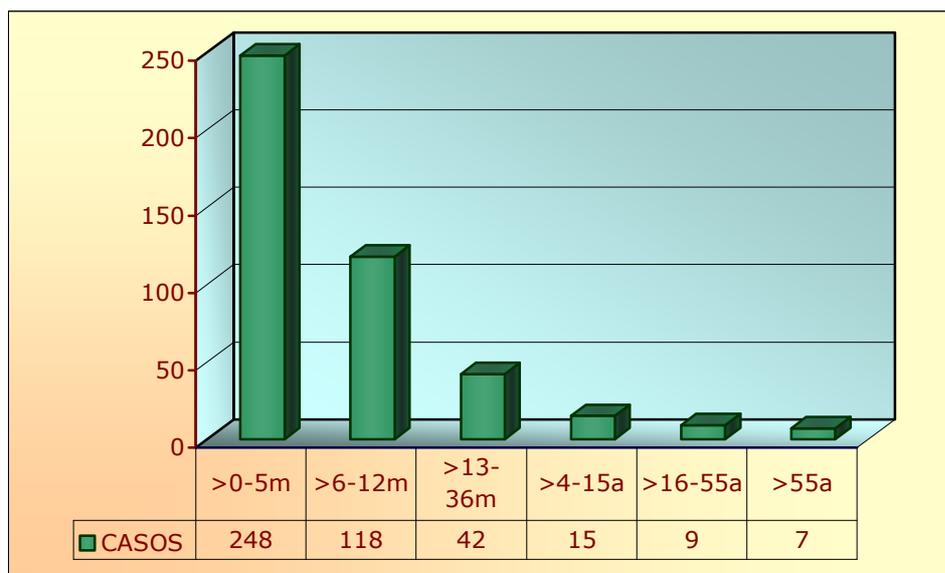


Figura 7-Distribución etaria acumulada de los casos de VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

1.1.2. Distribución por género

Del total de los 427 casos diagnosticados como positivos para VRS, se ha podido recoger el género en 404 casos (94.6%), registrándose 242 (60%) (IC_{95%} 55%-65%) hombres y 152 (40%) (IC_{95%} 35%-45%) mujeres. Éste predominio masculino se ha visto mantenido en todos los grupos de edad al realizar el análisis por categorías, salvo en el grupo de pacientes mayores de 55 años, al que pertenecen 8 pacientes, en el cual se ha observado un predominio de las mujeres. La distribución por géneros en los diferentes grupos de edad se muestra en la Tabla 6 y en la Figura 8 se señala el reparto porcentual. En ambos gráficos puede verse como las diferencias entre géneros son mayores en los grupos de edades más tempranas.

Al analizar los porcentajes de distribución por géneros en relación con la procedencia clínica (Pacientes Ingresados/Pacientes No Ingresados), se observa que el 77% (IC_{95%} 69%-83.8%) de los casos varones con infección por VRS eran pacientes ingresados en el medio hospitalario,

ocurriendo lo mismo en el 77.6% de las mujeres (IC_{95%} 67.3%-86%). Por otra parte, si consideramos los porcentajes totales de ingresos en su conjunto, el 61% correspondía a hombres y el 39% a mujeres, mientras que dichos porcentajes para el total de casos procedentes de consultas externas era de un 62% para los hombres y de un 38% para las mujeres. Se puede concluir que en ambos grupos la procedencia más frecuente fue la hospitalaria, pero tanto uno como otro género precisaron ingreso hospitalario con la misma frecuencia (Figura 9).

Tabla 6- Distribución porcentual por género según las edades de los casos de VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

EDADES	HOMBRES	MUJERES
<6 meses	57%	43%
6-12 meses	68%	32%
1-3 años	61%	39%
4-15 años	64%	36%
16-55 años	50%	50%
>55 años	43%	57%

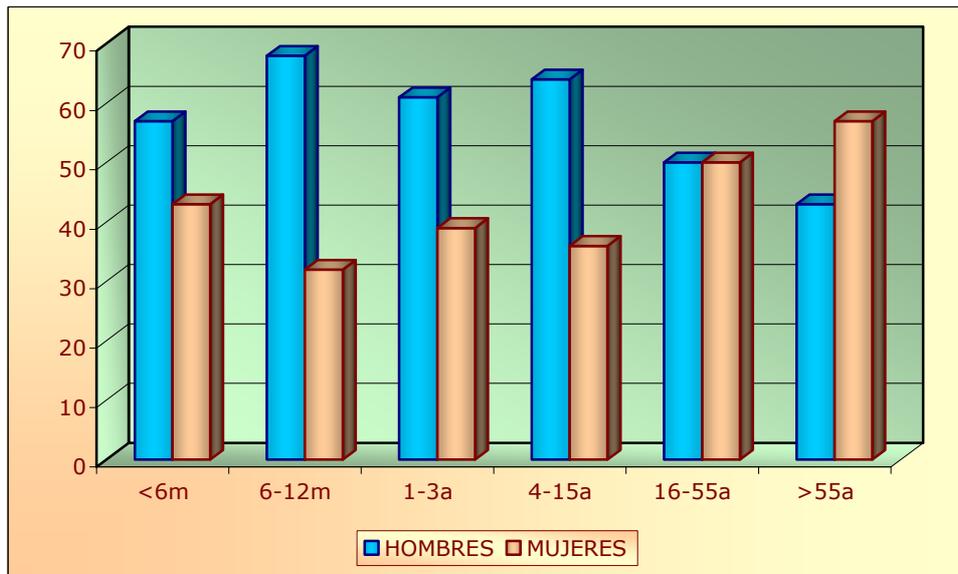


Figura 8-Distribución porcentual por género según los grupos de edad de los casos de VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

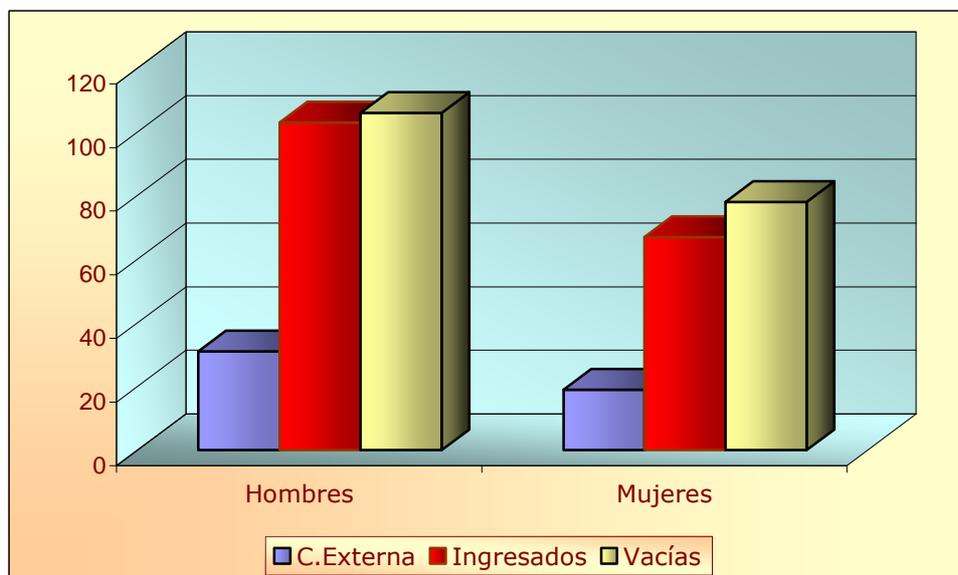


Figura 9-Distribución por género según la procedencia de los pacientes diagnosticados de VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

1.1.3. Procedencia clínica

Se han contabilizado un total de 220 casos diagnósticos en los cuales se conocía la procedencia de la muestra clínica, lo cual supone el 51.5% del total.

De estas 220 muestras, 170 (77%) pertenecían a pacientes ingresados en medio hospitalario, siendo el resto de las muestras pertenecientes a pacientes no ingresados, procedentes bien de consultas externas o enviadas desde Atención Primaria, dato que no ha sido posible encontrar.

De los 170 ingresados en medio hospitalario, la mayoría se encontraban en las habitaciones del HCU de Valladolid, 146 pacientes (85.9%), mientras que 20 pacientes (11.7%) estaban ingresados en el HCMC y 4 (2.4%) en el Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid (HURH) (Figura 10).

Éste alto porcentaje de ingresos, se mantiene en todas las edades al realizar el análisis de las muestras por grupo de edad. En los menores de 6 meses un 85% (IC_{95%} 74%-92%) estaban ingresados; en el grupo de 6 á 12 meses un 80% (IC_{95%} 65%-90%); en el de 12 á 24 meses un 91% y en el de 24 á 36 meses de vida un 75% de los casos (Figura 11). La tasa de ingresos acumulada para los mayores de 4 años fue del 97% (IC_{95%} 92%-99%).

De las 220 muestras procedentes de pacientes ingresados se conoce la distribución por servicios hospitalarios en 108 de estas muestras (49%). 107 muestras procedían del Servicio de Pediatría, en su mayoría de la Sección de Lactantes (85%), seguida de Neonatos (8%) y la Sección de Escolares (7%). La muestra restante procedía del Servicio de Medicina Interna y pertenecía a un paciente de 41 años. En las 112

muestras restantes no pudo constatar el servicio desde el cual fueron remitidas (Figuras 12 y 13).

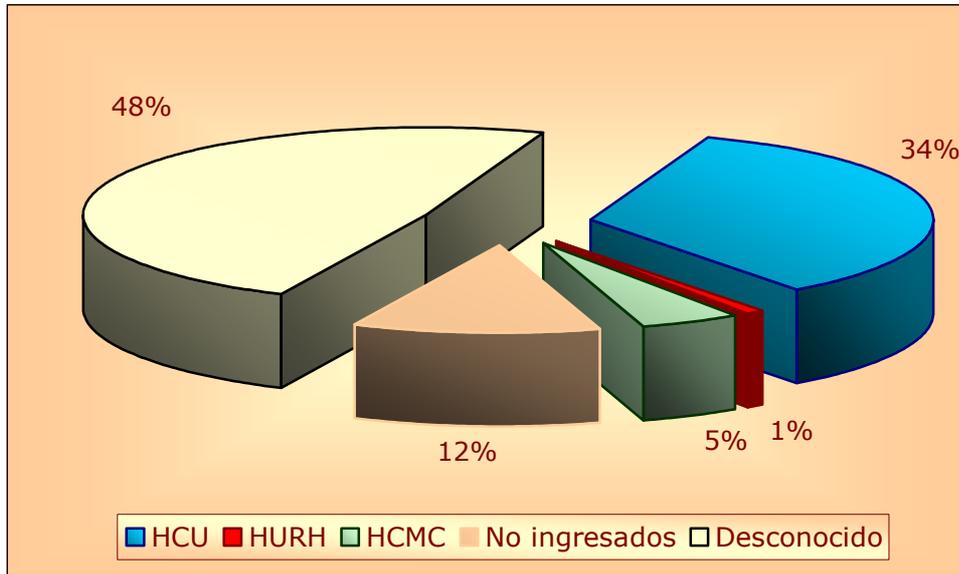


Figura 10-Procedencia de las muestras llegadas al Laboratorio de Microbiología del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

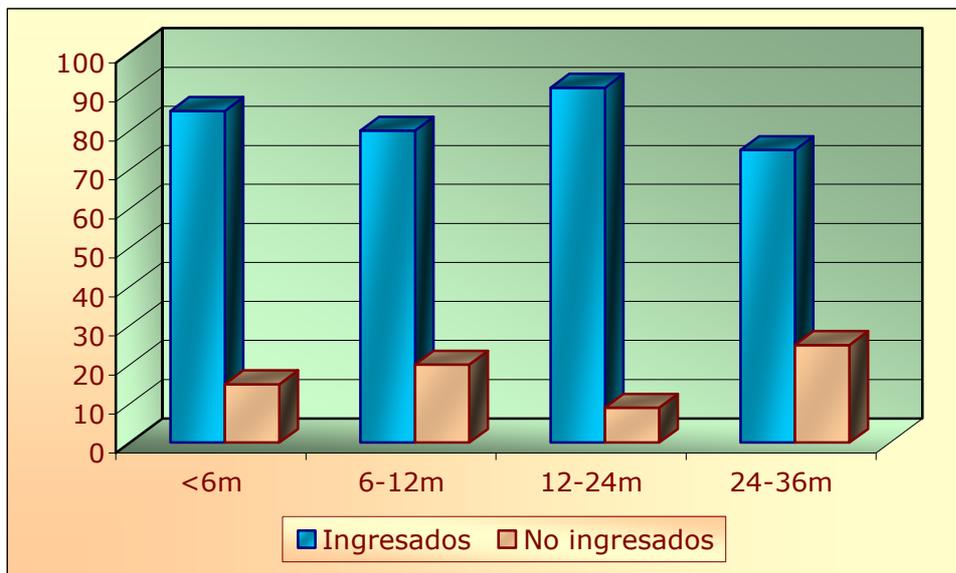


Figura 11-Porcentaje de las muestras pertenecientes a pacientes ingresados según el grupo de edad, llegadas al Servicio de Microbiología del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

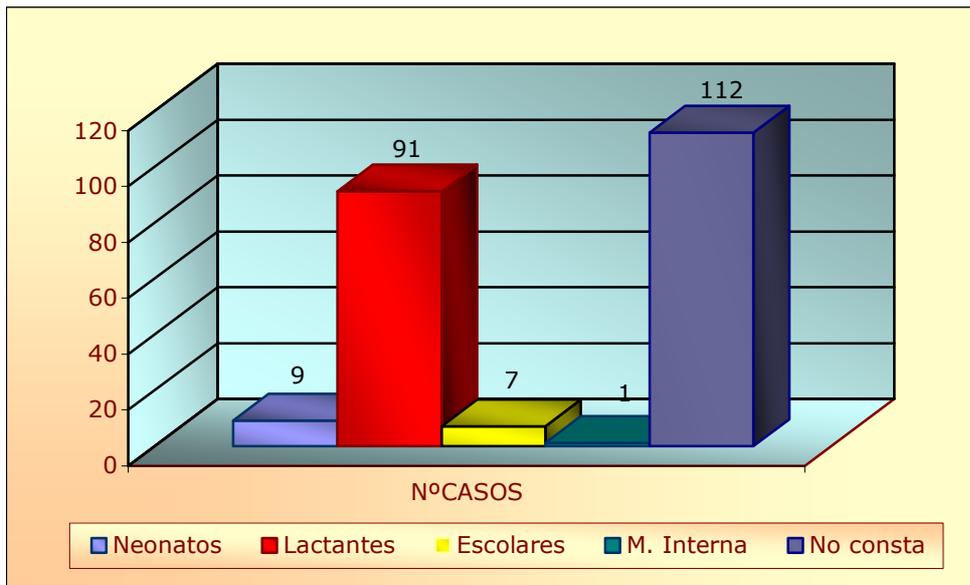


Figura 12-Distribución de las muestras por Secciones de los pacientes ingresados en medio hospitalario, llegadas al Servicio de Microbiología del HCU de Valladolid en el periodo 1999-2000.

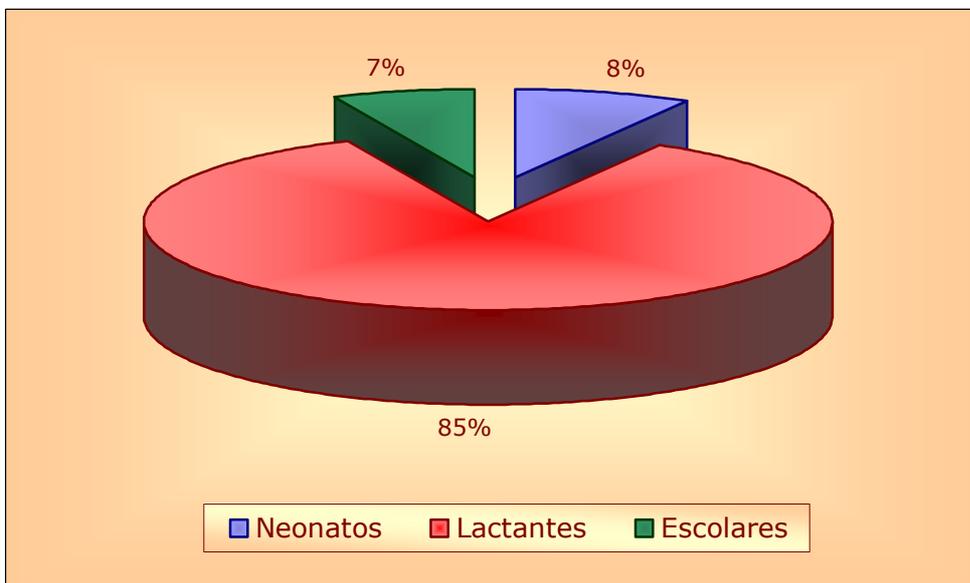


Figura 13-Distribución por Secciones de los pacientes ingresados en el Servicio de Pediatría de los cuales procedían las muestras recibidas en el Servicio de Microbiología del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

1.2. Distribución temporal

Las tasas de incidencia anual de casos positivos para VRS registradas por cada 100.000 habitantes en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid y su área de influencia en el periodo de 1990 al 2000 variaron desde un 5.64 a un 22.3 casos por cada 100.000 habitantes y año, con una media de 14.1 casos/100.000 habitantes-año. Destacan tres picos, en 1996, 1998 y 2000 (Tabla 7 y Figura 14).

Tabla 7-Tasas de incidencia anual registradas por cada 100.000 hab. en el HCU de Valladolid y su área de influencia.

1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
15.4	5.64	9.78	12.6	12.2	16.1	22.3	14.5	20.0	8.54	18.3

Media: 14.1 casos/100.000 Hab.-año

Rango: 5.64-22.3

Desviación Estándar: 5.03

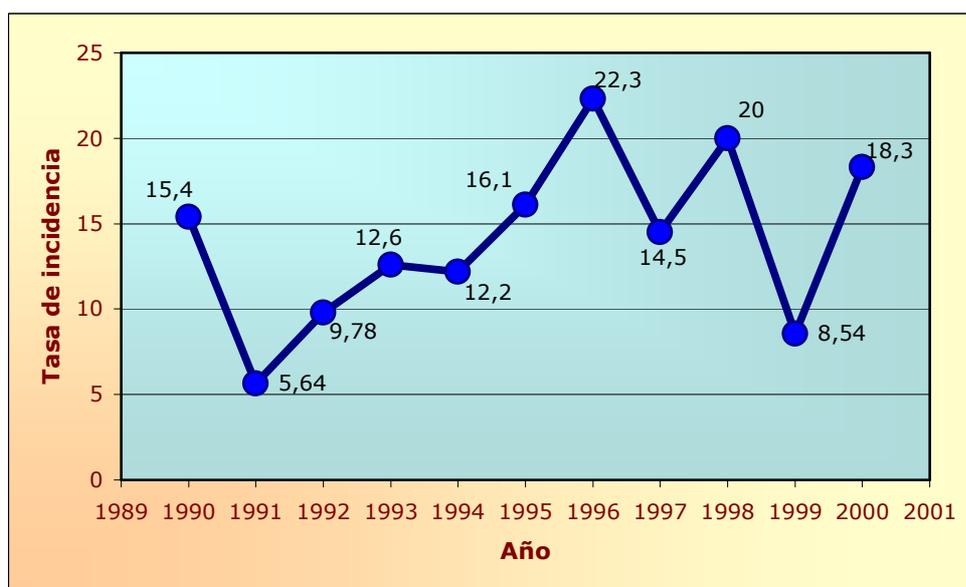


Figura 14-Tasa de incidencia anual de casos positivos para VRS por cada 100.000 habitantes en el HCU de Valladolid y su área de influencia.

La recogida de casos de VRS positivos se realizó a partir de los boletines de declaración etiológica de enfermedades que de forma semanal remite el Servicio de Microbiología del HCU de Valladolid al Centro Nacional de Epidemiología, dependiente del Instituto de Salud Carlos III de Madrid (Tabla 8).

Los datos recogidos por semana se agruparon por años, pudiendo observarse todos los años una distribución en dos brotes, al principio y al final del año coincidiendo con los meses más fríos y húmedos y con una duración de 5-6 meses, esto es entre Octubre y Abril, coincidiendo, si hablamos de temporadas, con el fin de una temporada (semanas 1-17, equivalente a Enero-Abril) y el inicio de otra (semanas 43-52, Octubre-Diciembre), observándose la detección de casos esporádicos entre las semanas 18 y 26 (Mayo-Junio). También se observa todos los años un parón o lapsus estacional libre de casos VRS positivos, coincidiendo con los meses de temperaturas más altas y menor humedad, semanas 27-42 que corresponden a los meses de Julio a Octubre (Tabla 9).

En los 11 años que abarca la recogida de datos se puede observar como, en las nueve temporadas correspondientes, la semana de primer aislamiento varía desde la semana 43 (finales de Octubre) en la temporada 93-94, a la semana 5 (inicio de Febrero) en la 92-93, estando en el 81.8% de los casos la semana de primer aislamiento entre las semanas 43 (Noviembre) y la 51 (Diciembre).

Por el contrario, la última semana de aislamiento por temporada de casos VRS positivos varía entre la 10 (Marzo) en la 90-91 y la 26 (Junio) en la 92-93, estando en el 72.7% de las temporadas entre las semanas 10 y 19 (mediados de Mayo) (Tabla 9, Figuras 15 y 17).

En cuanto a la semana en que fueron detectados más casos VRS positivos, destacar que en 3 temporadas se observan 2 picos de máxima incidencia en cada una de ellas (93-94, 96-97 y 98-99). Estas semanas en las que se detectaron más casos VRS positivos oscilaron entre la 51 (Diciembre), en las temporadas 93-94 y 98-99, con 7 casos respectivamente y la 7 (Febrero), en la 91-92, con 9 casos, coincidiendo como hacía referencia anteriormente con los meses más fríos, con temperaturas que variaron entre 5.1-6.3°C, y más húmedos, 84-72%, de cada año (Tablas 4 y 5). Siete de las trece semanas de máxima incidencia coincidían con el mes de Febrero (semanas 5-8). El número de casos por semana/s pico de cada temporada varía entre los 4 casos (semana 5) en la temporada 90-91 y los 10 casos (semana 4) de la 95-96, con una media de 6.8 casos por semana pico (Tabla 9, Figura 16).

Si hablamos de temporadas, la que presenta un mayor número de casos VRS positivos ha sido la temporada 99-00 con 58 casos y la que menos casos presenta ha sido la temporada 92-93 con 10 casos, estando la media de las 10 temporadas en 39.4 casos por temporada. El número de casos por temporada se ha venido manteniendo relativamente estable a lo largo de las últimas seis temporadas, con una media de 46,2 casos por temporada, frente a los 29,3 casos por temporada de las cuatro primeras temporadas analizadas (Tabla 9, Figura 16).

La Figura 15 resume otros datos de interés de las temporadas:

- En sólo una de las diez temporadas, la 98-99, el pico de máxima incidencia ocurrió antes de terminar el año adelantándose a lo ocurrido el resto de temporadas.

- En dos de las diez temporadas (92-93, 94-95) el primer aislamiento no ocurrió hasta después de comenzado el año, estando retrasado con respecto a lo ocurrido las otras temporadas.
- En tres (92-93, 95-96, 96-97) de las diez temporadas el último aislamiento ocurrió después del mes de Abril.

Haciendo referencia a los 11 años estudiados (Tabla 8 y Figuras 17-29), el año con mayor número de casos VRS positivos ha sido el año 1996 con 66 casos y 1991 el año en que menor número de casos aparecieron con 16 casos; estando la media anual en este periodo en 38.8 casos (IC_{95%} 34.2%-43.6%). En estos 11 años, se pueden distinguir dos picos de máxima incidencia de detección de casos VRS positivos, el principal que va de la semana 5 a la 7, coincidiendo Febrero, estando entre 39-43 casos/semana y otro en las semanas 51 y 52, con 23-28 casos/semana, que corresponden a las últimas semanas de Diciembre (Figura 17). Pero podemos decir que existen valores significativos desde la semana 49 a la 14. Además, se aprecia un claro parón o lapsus estival durante el cual el VRS no se aísla, de mediados del mes de Julio a mediados del mes de Noviembre (semanas 27 á 42).

Entre los años 1993 y 2000, existe una oscilación máxima de 33 casos, y entre la temporada de máxima incidencia (1993-94) y la temporada de mínima incidencia (1997-98) la oscilación es de 31 casos VRS positivos.

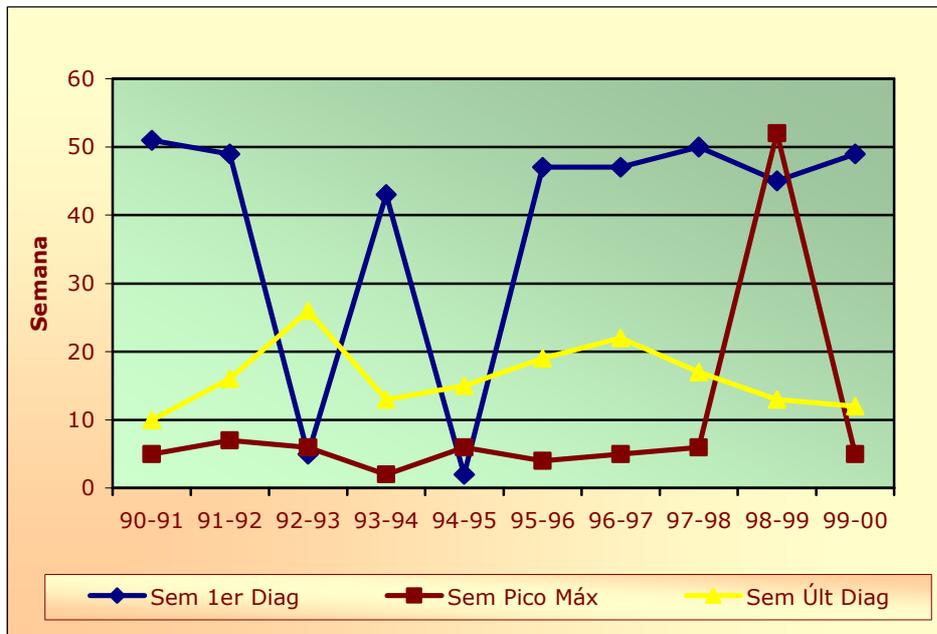


Figura 15-Semana de inicio y finalización de las epidemias por VRS, así como las semanas con mayor número de diagnósticos positivos en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

Tabla 8-Relación semanal de casos VRS positivos en el Laboratorio de Microbiología en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

Sem	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	1990-2000
1	0	0	0	0	5	0	3	3	0	4	2	17
2	0	0	1	0	7	1	2	2	1	2	6	22
3	0	0	0	0	2	0	3	6	1	0	1	13
4	1	0	3	0	4	1	10	4	2	1	6	32
5	5	4	4	1	4	3	7	6	0	1	8	43
6	4	1	4	4	1	8	5	5	5	0	5	42
7	6	2	9	0	2	5	5	2	4	0	2	37
8	1	1	0	1	3	4	4	4	0	0	3	21
9	5	2	0	0	1	1	1	0	2	3	6	21
10	5	1	0	0	1	0	4	1	2	4	2	20
11	0	0	0	0	0	1	1	1	2	0	2	7
12	0	0	1	0	4	3	1	0	2	0	6	17
13	4	0	0	0	1	3	1	1	2	1	0	13
14	0	0	2	0	0	5	3	0	3	0	0	13
15	0	0	1	0	0	2	0	1	1	0	0	5
16	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	4
17	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
22	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
44	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
45	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
46	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
47	0	0	0	1	0	1	1	0	4	0	0	7
48	0	0	0	1	0	0	1	0	3	0	0	5
49	0	2	0	3	0	0	3	0	4	2	0	14
50	0	0	0	1	0	2	1	1	1	1	0	7
51	1	2	0	7	0	1	4	1	7	0	0	23
52	1	1	0	5	0	2	5	0	7	6	1	28
TOTAL	34	16	28	36	35	43	66	39	55	25	50	427

Tabla 9-Semanas de inicio y finalización de casos en las epidemias anuales de infección por VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.*

Temporada	SemPrimerAisl	Sem Pico Máx	SemÚltimoAisl	Nº Casos
1990-91	51	5	10	13
1991-92	49	7	16	33
1992-93	5	6	26	10
1993-94	43	51 y 2	13	61
1994-95	2	6	15	37
1995-96	47	4	19	57
1996-97	47	3 y 5	22	52
1997-98	50	6	17	30
1998-99	45	51 y 52	13	43
1999-2000	49	5	12	58
				Total: 394

* No se incluyen los casos de Enero a Abril de 1990 por corresponder a la temporada 1989-1990.

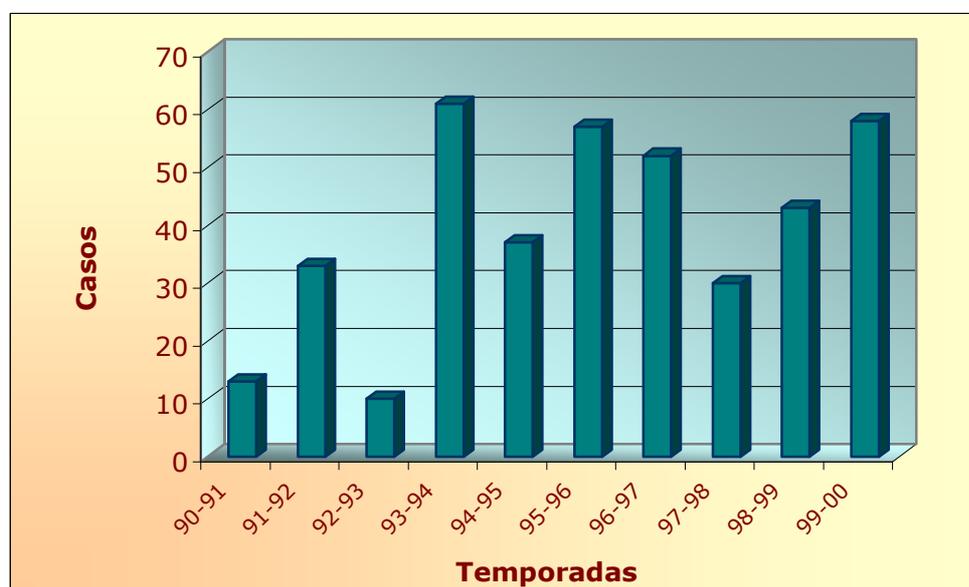


Figura 16-Distribución de los casos positivos para VRS por temporada, en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

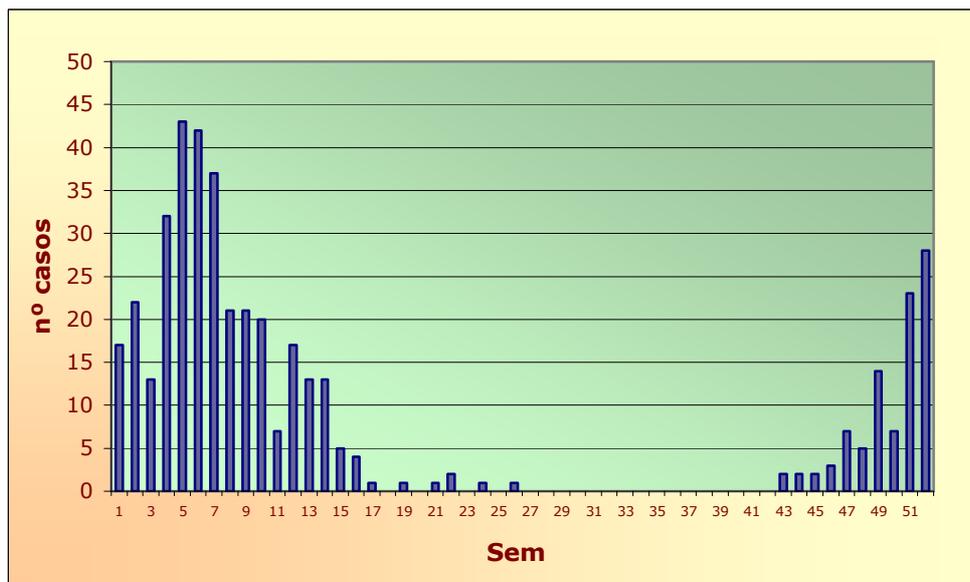


Figura 17-Distribución semanal acumulada de los casos VRS positivos en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

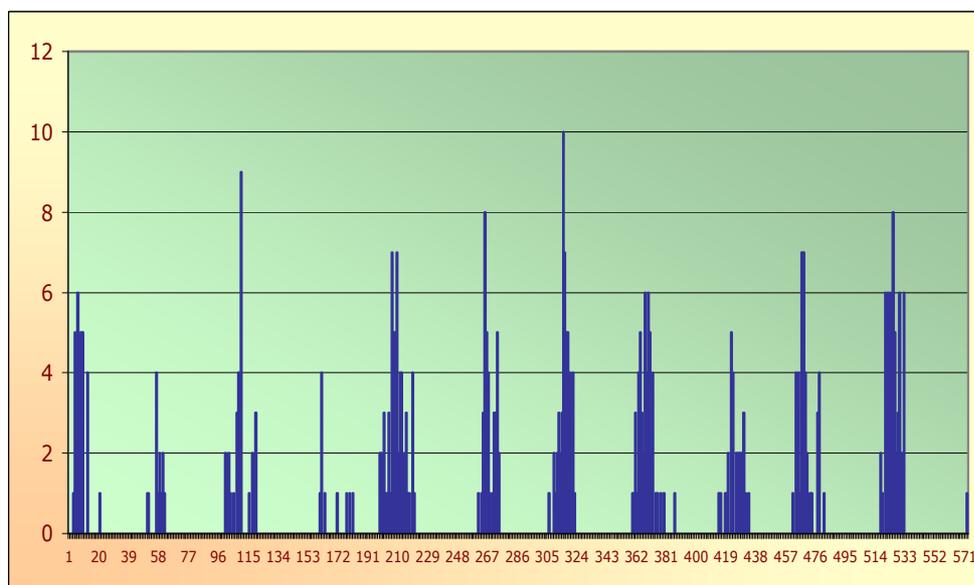


Figura 18-Distribución temporal semanal de los casos VRS positivos casos en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

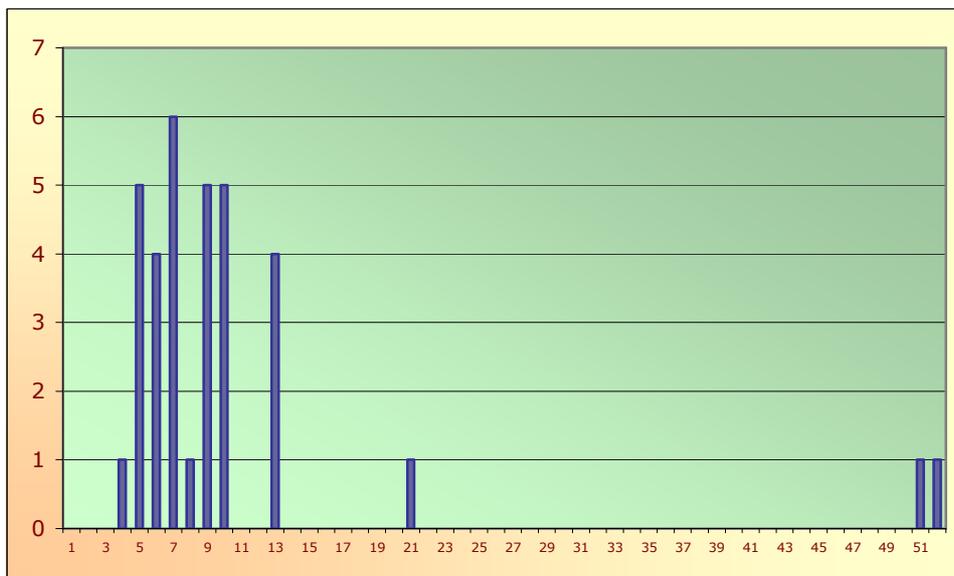


Figura 19-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1990.

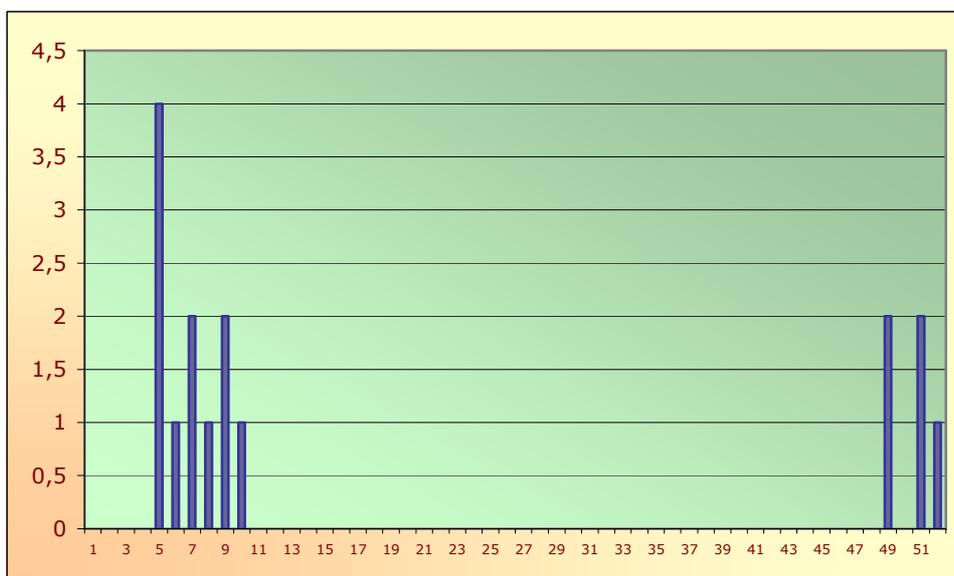


Figura 20-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1991.

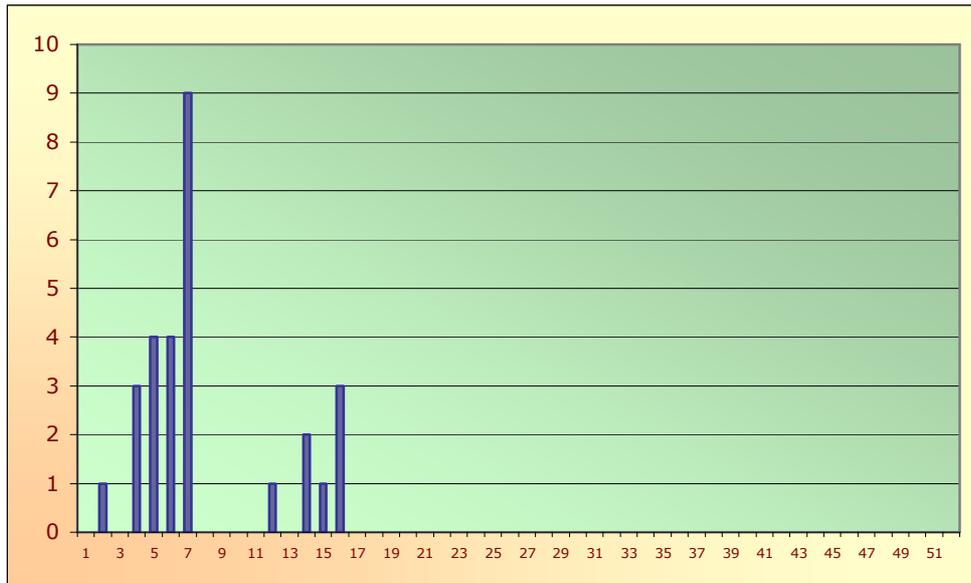


Figura 21-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1992.

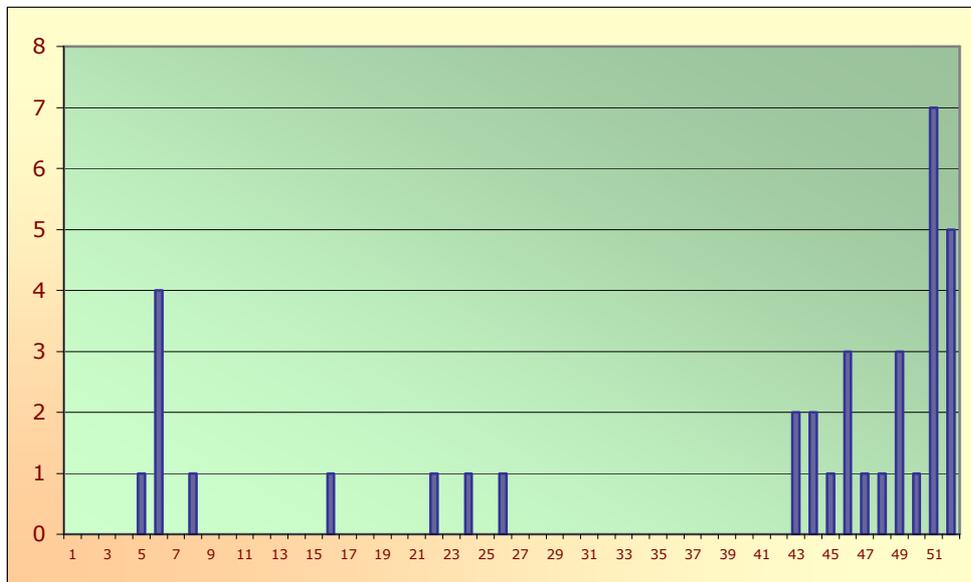


Figura 22-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1993.

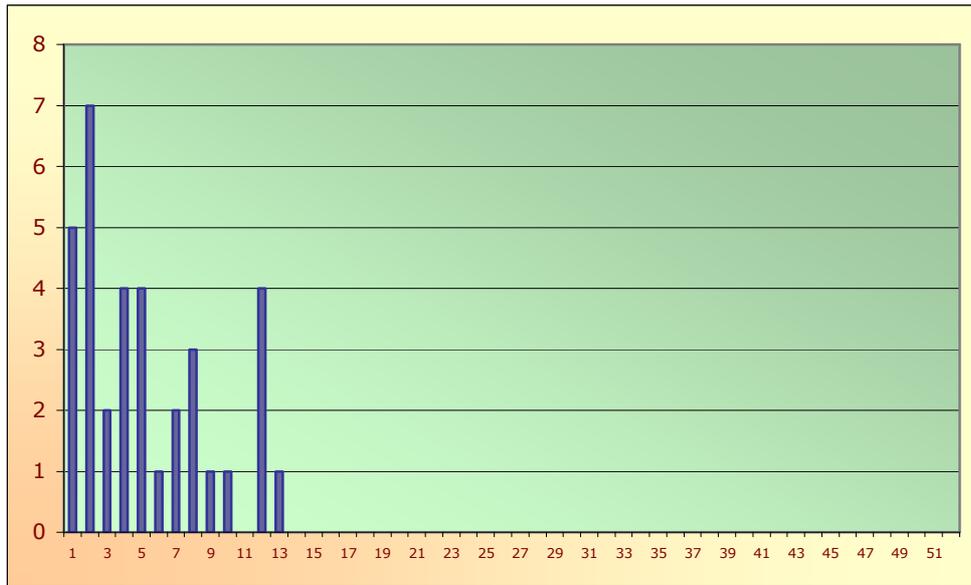


Figura 23-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1994.

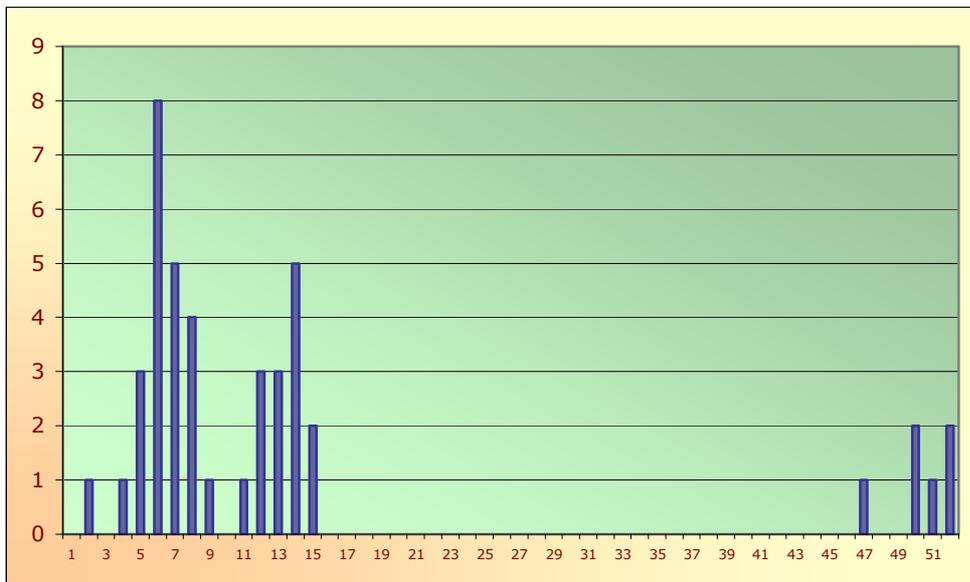


Figura 24-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1995.

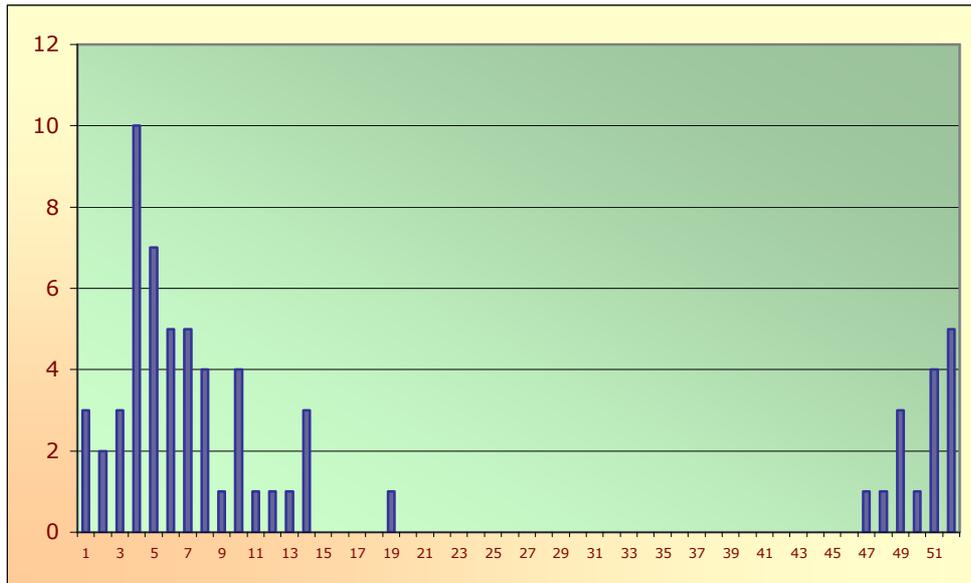


Figura 25-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1996.

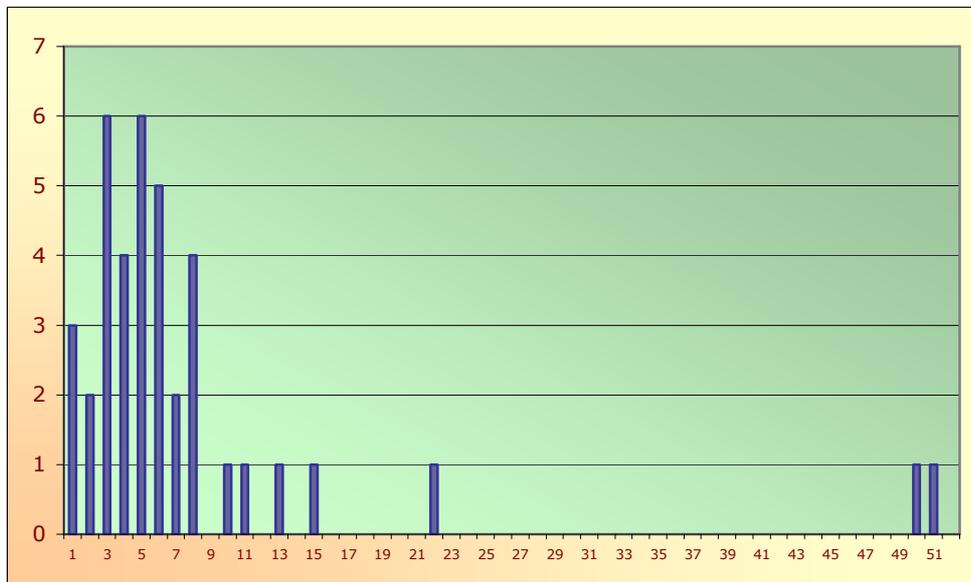


Figura 26-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1997.

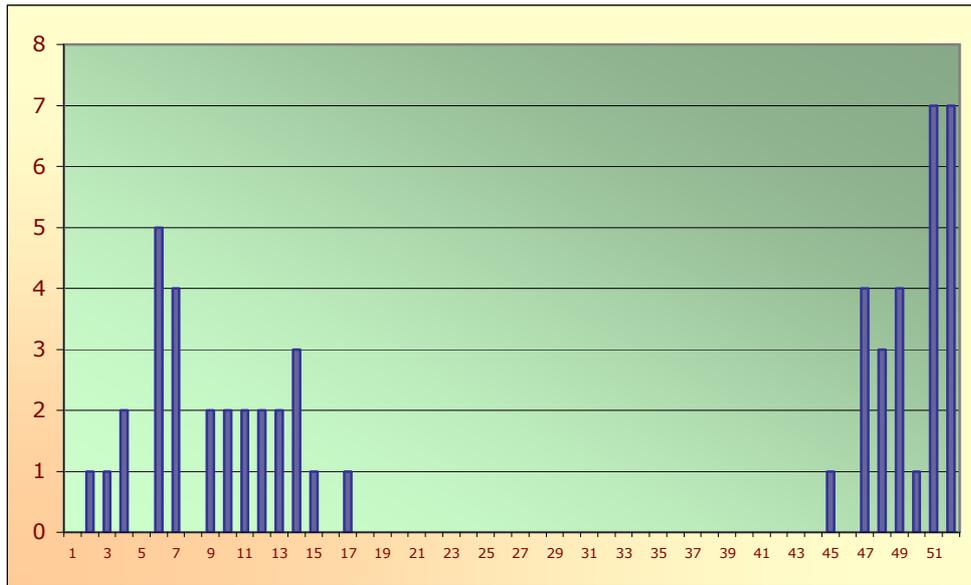


Figura 27-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1998.

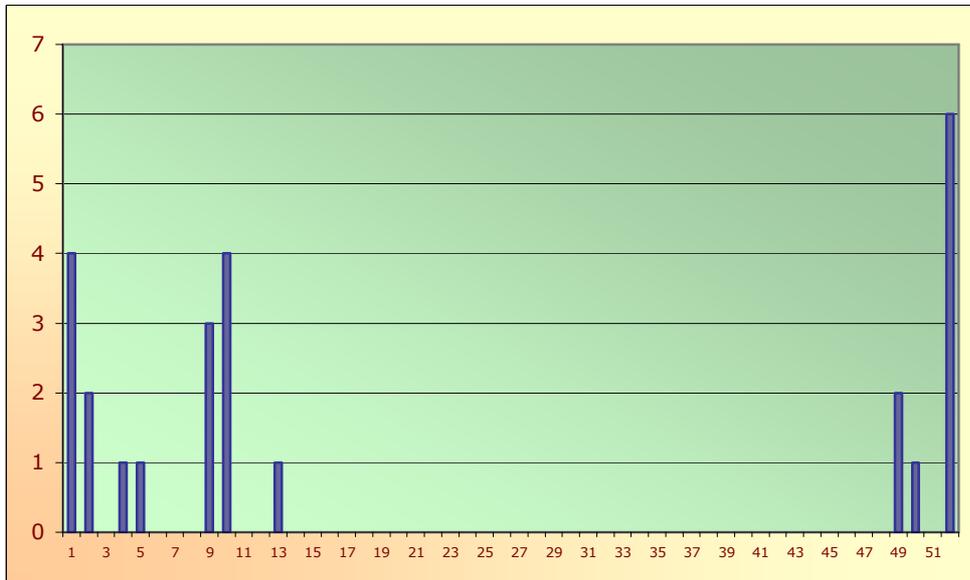


Figura 28-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 1999.

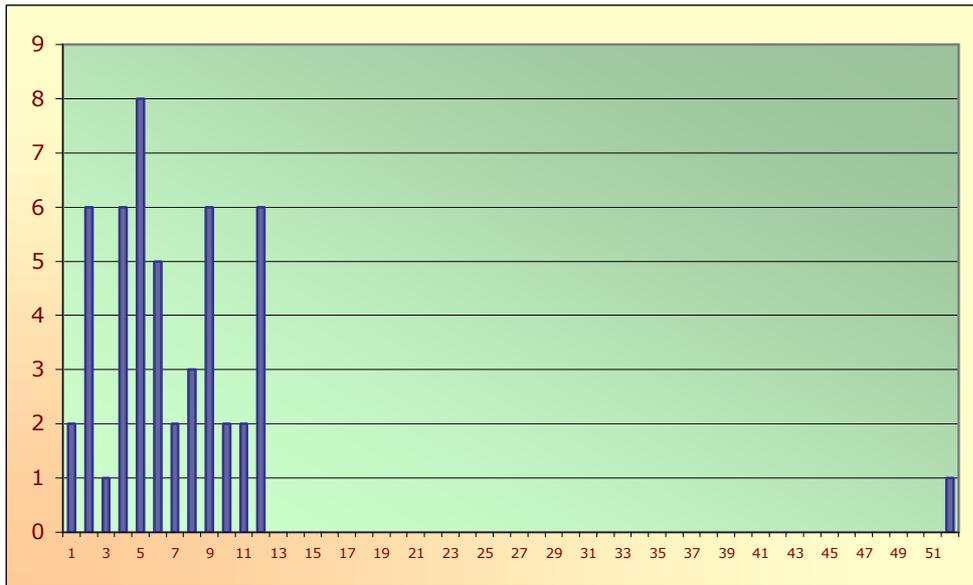


Figura 29-Distribución temporal semanal de los casos VRS en el HCU de Valladolid en el año 2000.

1.3. Clínica asociada a la infección

Durante la realización del estudio se consiguió recoger del volante de petición diagnóstica la sintomatología clínica asociada a la infección VRS en 234 casos, lo que supone un 54.2% del total de las muestras remitidas.

Un 89% de los pacientes (IC_{95%} 84%-93%), estaban diagnosticados de "patología de vías respiratorias bajas". En su mayor parte los diagnósticos correspondieron a bronquitis y bronquiolitis, que juntas sumaban un 70% del total (IC_{95%} 63%-76%), siendo respectivamente un 36% y un 34%. De forma menos prevalente se diagnosticaron también un 11% (IC_{95%} 7%-16%) de casos como bronquitis espástica, y neumonías en un 8% (IC_{95%} 5%-12%). Un 3% de los casos venía únicamente etiquetado en el informe de petición diagnóstica como infección respiratoria. Un 2% de los casos venía definido por la sintomatología dominante que fue la insuficiencia respiratoria. Otro 2% venía descrito como síndrome febril y finalmente, un 2% hacía referencia a otro tipo de signos y síntomas respiratorios como pueden ser: tos, catarro, EPOC, bronquitis disneizante, alteraciones en la radiografía de tórax, etc.

Por último, se diagnosticaron 4 casos de VRS en pacientes cuya sintomatología no era la del proceso respiratorio en curso, siendo en estos casos pertenecientes a pacientes en un caso de endocarditis, otro de gastroenteritis aguda, un caso de traumatismo y otro de sepsis aguda. Los datos y porcentajes vienen recogidos en la Tabla 10 y Figura 30.

Tabla 10-Procesos clínicos que aparecen en la petición de las pruebas diagnósticas frente al VRS solicitadas al Laboratorio de Microbiología del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

CLÍNICA REFERIDA EN LA PETICIÓN	Nº Casos	%
BRONQUITIS	83	36
BRONQUIOLITIS	80	34
BRONQUITIS ESPÁSTICA	25	11
NEUMONÍA	19	8
INFECCIÓN RESPIRATORIA	8	3
INSUFICIENCIA RESPIRATORIA	4	2
SÍNDROME FEBRIL	5	2
Otros signos y síntomas respiratorios	5	2
Otros	4	2
TOTAL	234	100

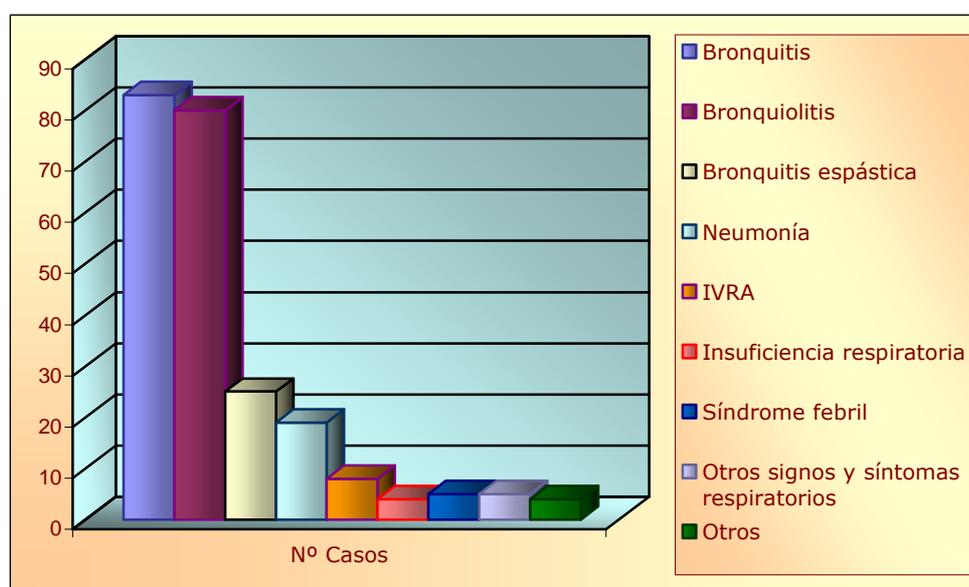


Figura 30- Procesos clínicos que aparecen en la petición de las pruebas diagnósticas frente al VRS solicitadas al Laboratorio de Microbiología del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

El análisis de la patología referida en la solicitud analítica, en la distribución por grupos de edad hasta los 3 años, se pudieron recoger 138 casos en los que aparecían la edad y el diagnóstico, reflejando que en el grupo de pacientes positivos para VRS menores de 6 meses de vida, 18 niños se etiquetaron como bronquitis (23%) y 40 como bronquiolitis (51%), mientras que el resto de patologías (26%) fueron menos frecuentes. En el grupo de edad correspondiente a niños de entre 6 y 12 meses, 19 se diagnosticaron de bronquitis (40%) y 15 de bronquiolitis (32%), de forma similar al grupo anterior, el resto de procesos se presentaban con porcentajes mucho menores (28%). El reparto es similar en el grupo de niños de 1 a 3 años, con 6 casos (46%) catalogados de bronquitis y 3 de bronquiolitis (23%) de un total de 13 pacientes. (En el grupo de pacientes mayores de 3 años, todas las infecciones por VRS vienen referidas fuera de la bronquitis y la bronquiolitis). (Figura 31)

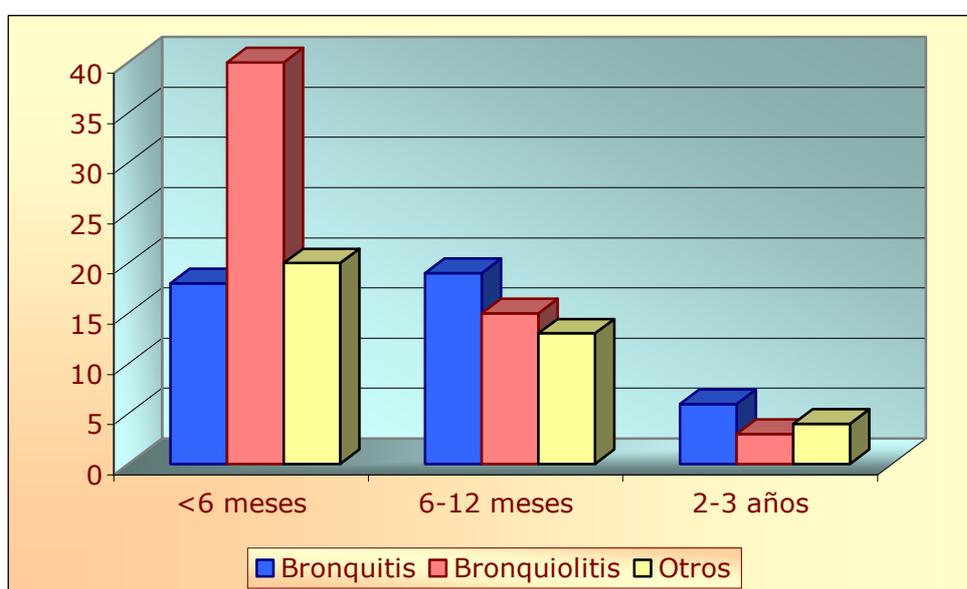


Figura 31-Análisis de la patología referida en la solicitud de analítica por grupo de edad en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

1.4. Métodos diagnósticos

A lo largo del periodo de estudio, se utilizaron distintas técnicas diagnósticas basadas en tres principios diferentes:

- Aislamiento mediante cultivo.
- Detección de los antígenos de superficie viral mediante técnicas de inmunofluorescencia (IF) ó de inmunoenzimoanálisis (EIA).
- Una técnica diagnóstico indirecto (FC), que consiste en detectar en el suero una respuesta de anticuerpos específica frente el VRS, como seroconversión entre dos sueros (método diagnóstico retrospectivo), o un título alto (>128) en pacientes con clínica compatible.

Los 427 casos de infección VRS diagnosticados correspondían a un total de 758 resultados positivos determinados por las distintas técnicas utilizadas, de tal forma que analizando sólo el empleo de una técnica diagnóstica obtuvimos que en 162 casos (21.4%) los positivos correspondían a cultivos, en 318 (42%) ocasiones fue positiva la inmunofluorescencia, en 240 (31.6%) el inmunoenzimoanálisis y en 38 (5%) ocasiones la reacción de fijación del complemento (Tabla 11 y Figura 32). De los 427 casos de infección VRS, se estableció el diagnóstico mediante cultivo, solo o en concordancia con otra técnica positiva, en un 38% de los casos; ocurriendo lo mismo en relación con la IF en un 74.5%, con el EIA en un 56% y con la FC en un 9% de los casos.

Analizando de forma excluyente las técnicas diagnósticas que fueron positivas, la asociación de IF más EIA positivo fue la más frecuente; presentándose en 110 ocasiones (26%), seguida de la IF por si sola (24%) y la asociación Cultivo+IF+EIA positivo en el 21% de los casos. La técnica con menos positivos resultó ser el EIA por si solo, con 13 positivos (3%). (Tabla 12 y Figura 33)

Tabla 11-Técnicas empleadas, en el diagnóstico de la infección por VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000. No excluyentes.

Técnica	Nº Casos	%
Cultivo	162	21.4
IF	318	42
EIA	240	31.6
FC	38	5
Total	758	100

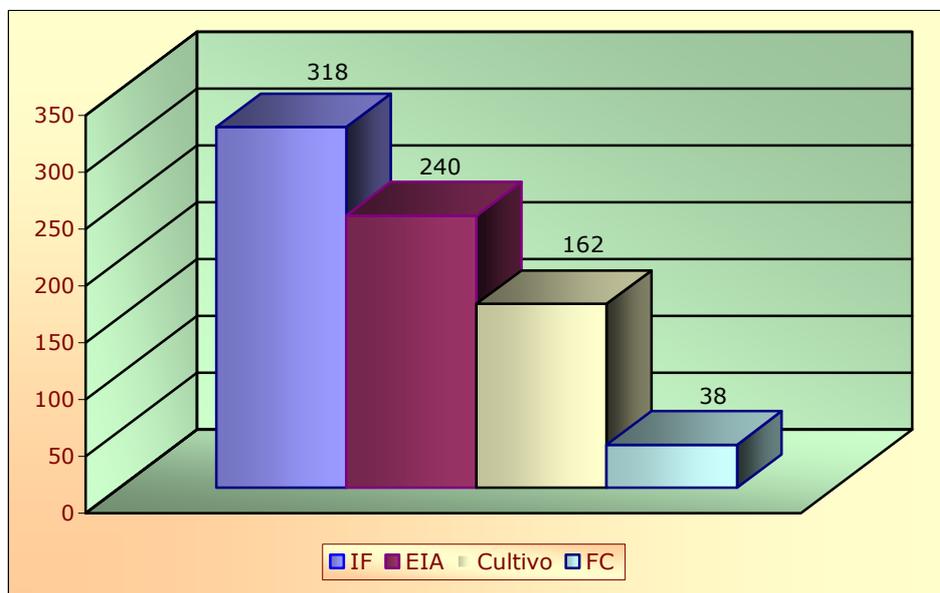


Figura 32-Técnicas empleadas en el diagnóstico de la infección por VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000. No excluyentes.

Tabla 12-Técnicas empleadas en el diagnóstico de la infección por VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000. Excluyentes.

Técnica	Nº Casos	%
Cultivo	33	8
IF	104	24
EIA	13	3
FC	38	9
Cult+IF+EIA	92	21
Cult+IF	12	3
Cult+EIA	25	6
IF+EIA	110	26
Total	427	100

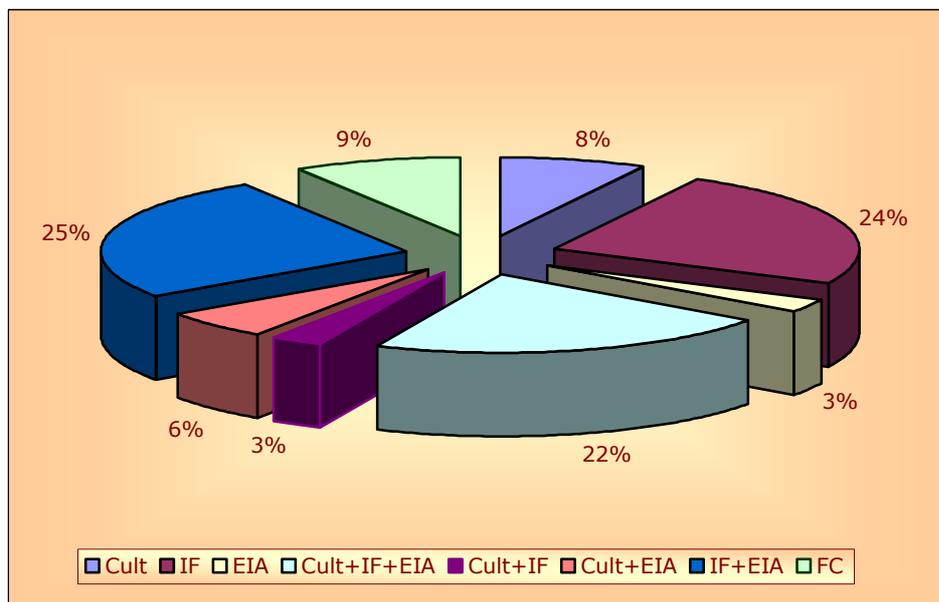


Figura 33- Técnicas empleadas en el diagnóstico de la infección por VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000. Excluyentes.

Analizando la distribución de las técnicas diagnósticas empleadas por grupos de edad de la población de pacientes, cabe destacar que la prueba que más positivos aporta fue la IF seguida de el EIA, en los menores de 15 años como refleja la Tabla 13. Sin embargo, en la población >15 años predomina la FC, no habiendo detectado casos positivos con el cultivo ni con el EIA.

Tabla 13-Relación de los métodos diagnósticos y los grupos de edad de los casos diagnosticados de VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

Técnicas	0-12 meses	>1-15 años	>15 años	Total
IF	164 (87.2%)	23 (12.2%)	1 (0.6%)	188
EIA	123 (91.8%)	11 (8.2%)		134
CULTIVO	81 (91.1%)	8 (8.9%)		89
FC	2 (13.3%)	4 (26.7%)	9 (60%)	15

1.4.1. Resultados del cultivo celular

El cultivo celular y aislamiento del VRS sirvió como método diagnóstico positivo en un total de 162 casos de los 427 en los que se tenía recogida la técnica diagnóstica empleada, lo cual supuso un 35% del total de los casos (IC_{95%} 33%-43%). (Tabla 12 y Figura 34)

Si hablamos del total de pruebas diagnósticas para VRS (758), el cultivo celular supuso un 21.4% del total (Tabla 11). Este rendimiento fue menor al que mostraron cada una de las pruebas de detección de antígenos por separado.

Teniendo en cuenta la coincidencia que existió entre las diferentes técnicas de diagnóstico empleadas, puede decirse que el cultivo fue positivo junto a la IF y la EIA en 92 de los 162 casos; en 25 sólo junto a EIA; en 12 sólo junto a la IF y finalmente en 33 casos dicha técnica resultó diagnóstica por sí sola. Estas cifras suponen respectivamente un 21%, 6%, 3% y 8% del total. (Tabla 12)

Haciendo referencia a los grupos de edad en los que se empleó el cultivo vírico como prueba diagnóstica, observamos que fue utilizado en los niños menores de 15 años, sobretodo en las muestras procedentes de pacientes menores de 12 meses de vida (91.1%). (Tabla 13)

1.4.2 Resultado de la detección de antígenos VRS

En el presente estudio, la inmunofluorescencia (IF) constituyó por sí sola la prueba diagnóstica con un mayor número de casos positivos, un 42% del total (IC_{95%} 71%-89%), por delante del EIA, positivo en un 31.6% de los casos (IC_{95%} 51%-61%). (Tabla 11 y Figura 32)

Sin embargo, mientras que la IF por sí sola lograba detectar hasta un 24% de todos los casos diagnosticados, la EIA de forma aislada no llegaba a diagnosticar más de un 3% de los casos. Si bien son estas dos técnicas de forma combinada las responsables del mayor porcentaje de diagnósticos positivos llevados a cabo durante el decenio, un 25% del total (IC_{95%} 22%-31%). (Tabla 12)

Haciendo referencia a los grupos de edad en los que se emplearon las pruebas de detección de antígenos VRS, destacar que la EIA solo se empleó en muestras de pacientes menores de 15 años. Ambas pruebas, EIA e IF fueron utilizadas sobretodo en muestras de casos menores de 12 meses de vida (91.8 y 87.2 % respectivamente.) (Tabla 13)

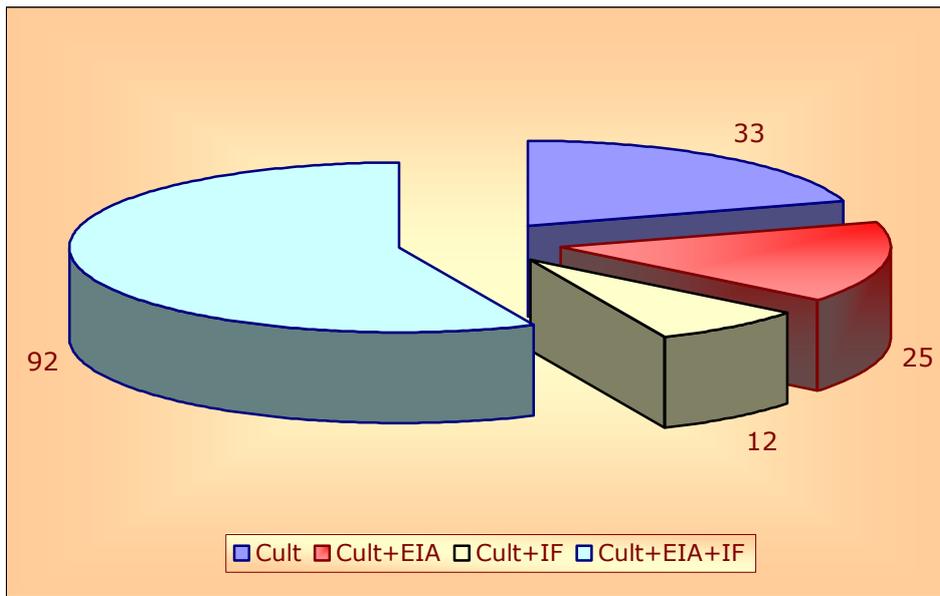


Figura 34-Resultado del cultivo celular y su asociación con otras técnicas diagnósticas positivas para VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

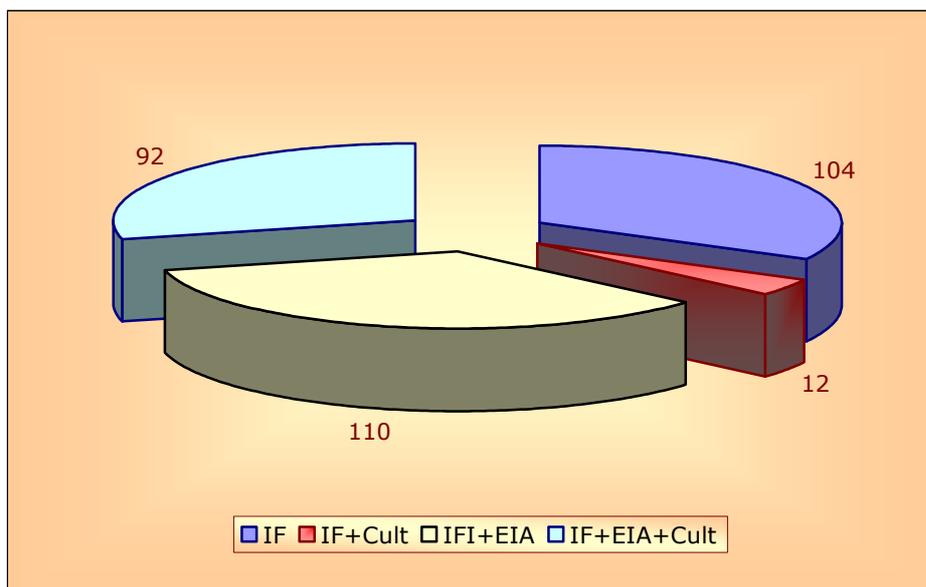


Figura 35-Resultado de la técnica de inmunofluorescencia (IF) y su asociación con otras técnicas diagnósticas positivas para VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

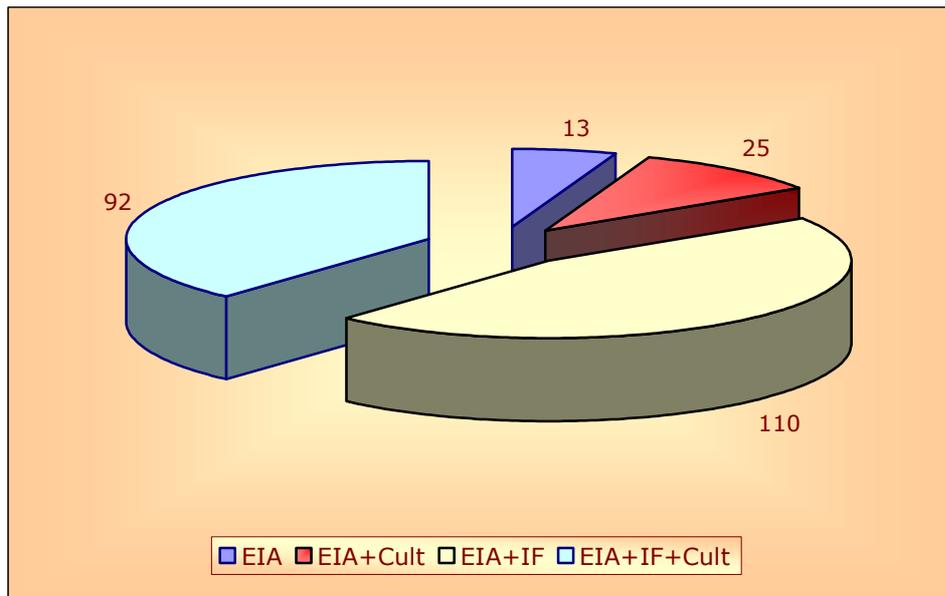


Figura 36-Resultado de la técnica de enzimoimmunoensayo (EIA) y su asociación con otras técnicas diagnósticas positivas para VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

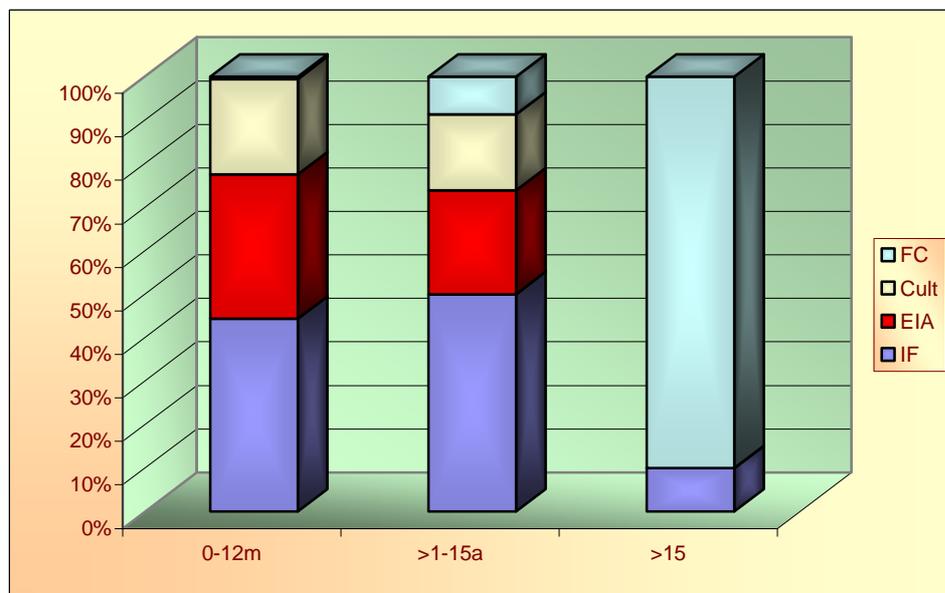


Figura 37-Resultado de los distintos métodos diagnósticos para VRS divididos por grupo de edad en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

1.4.3. Resultados del diagnóstico indirecto

En la presente revisión de pruebas de diagnóstico serológico, la técnica diagnóstica utilizada fue la prueba de fijación del complemento, que fue positiva en 38 de los 427 casos diagnosticados (9%). (Tabla 12)

De estos 38 casos que suponen un 5% del total de diagnósticos positivos ($IC_{95\%}$ 7%-12%), la mayoría (29) se registra como "título alto de anticuerpos". Aparte de esto, existe sólo un caso de seroconversión y 6 casos en los que los títulos estuvieron entre 64-128. (Tabla 11)

En 21 de los 38 casos no se dispuso de la edad de los pacientes. Al hacer la distribución de los pacientes por grupos de edad, encontramos que el 100% de los pacientes mayores de 15 años (9 casos) fueron diagnosticados atendiendo únicamente a criterios serológicos. Los otros 6 casos de los que se dispone las edades fueron un niño de 5 años, 3 niños de 3 años y 2 niños de 3 meses de vida. (Tabla 13)

2. Resultados del muestreo aleatorio de los casos VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid durante el periodo 1990-2000

En esta segunda parte, de los todos casos diagnosticados positivos para infección VRS en el HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000, se procedió a tomar una muestra aleatoria de 95 casos, realizándose una revisión de forma retrospectiva de las historias clínicas.

Todos los casos de la muestra procedían del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

De las 95 historias revisadas aleatoriamente, se pudieron obtener datos de 92 de ellas, no pudiendo hacerlo en 3 ocasiones al no encontrarse documentación.

2.1. Pacientes

De todos los casos recogidos, 60 de los casos eran varones (63%) mientras que el resto, 35 de los casos, eran mujeres (37%), como se recoge en la Figura 38.

Otro de los datos revisados fue la edad de los pacientes en el momento de su ingreso. De los 95 casos revisados de forma aleatoria, se pudo recoger la edad de 93 de ellos, realizándose una distribución en tres grupos, a saber: (Figura 39)

- Niños menores de 1 mes de vida: 5 pacientes (5%).
- Niños de entre 1 y 5 meses de vida: 36 pacientes (39%).
- Niños mayores de 5 meses de vida: 52 pacientes (56%).

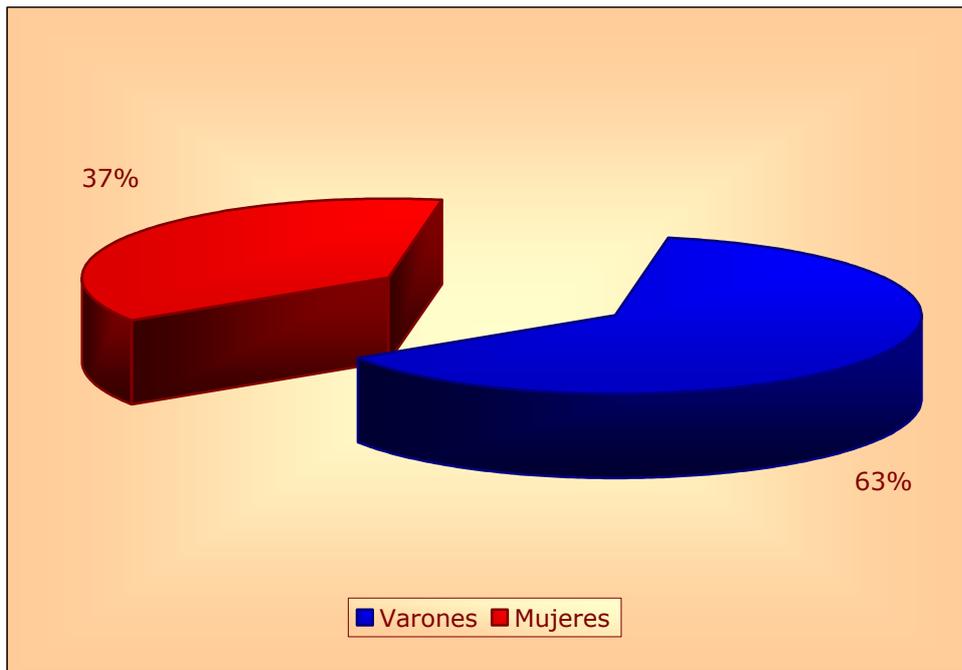


Figura 38-Distribución por género de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

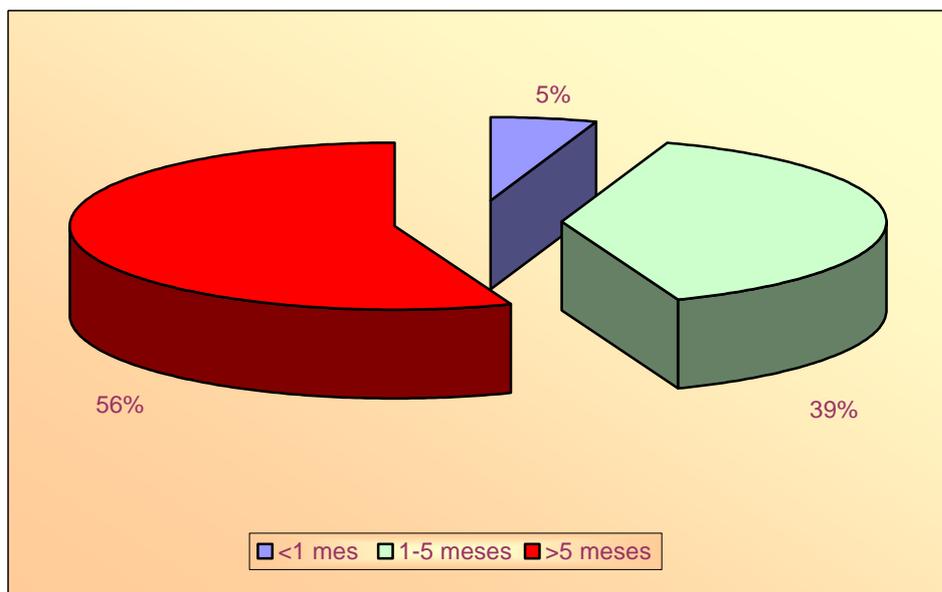


Figura 39-Distribución etaria de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

Realizando una comparación entre el género de los casos y la edad de los mismos, se puede observar un predominio de los varones sobre las mujeres en los tres grupos de edad, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa. (Tabla 14)

Tabla 14-Relación entre la edad y el género de la muestra seleccionada seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

	Varones	Mujeres	Total
<1 mes	3	2	5
1-5 meses	21	15	36
>5 meses	35	17	52
Total	59	34	93

Se pudo recoger también, la procedencia urbana o rural de los pacientes, pudiéndose constatar que en su mayoría provenían del medio urbano, 78 de los casos (85%); mientras que 14 de los casos provenían del medio rural (15%) y en 3 casos (3%) desconocemos su procedencia. (Figura 40)

Al relacionar la procedencia de los pacientes con el género, cabe señalar que en ambos medios predominaban los varones, siendo este hallazgo más llamativo en el medio rural, donde destaca un 79% de varones frente a un 21% de mujeres. (Figura 41)

Así mismo, cuando relacionamos la procedencia con la edad de los pacientes, se puede ver que la mayoría de los niños de entre 1 y 5 meses de vida (64%), provenían del medio rural, mientras que del medio urbano procedían la mayoría de los niños del grupo de mayores

de 5 meses (61%); siendo la relación procedencia-edad estadísticamente significativa ($p=0.0537$). (Figura 42)

Se pudo recoger la duración de la estancia hospitalaria en 89 de los 95 casos seleccionados, siendo la estancia media hospitalaria de 7.37 días (mínimo 1 día y máximo 19 días). En 4 casos se desconocían los días de estancia hospitalaria y en 2 casos las muestras procedían de pacientes que no se encontraban ingresados ya que se recogieron en las Consultas Externas del HCU de Valladolid.

En cuanto a la relación duración de la estancia hospitalaria y edad de los casos, se observó que a mayor edad mayor de los casos duración del ingreso hospitalario, no siendo ésto estadísticamente significativo. (Figura 43)

Al realizar la relación entre duración de la estancia hospitalaria (en días de ingreso) de los casos con la distinta patología asociada que presentaban, se encontró diferencia estadísticamente significativa al relacionar días de ingreso con gastroenteritis ($p=0.0006$). Estos pacientes presentaron una estancia hospitalaria mayor de 10 días (61%). (Figura 44)

Otro dato recogido en esta segunda parte del estudio, fue la vía de acceso al medio hospitalario. Este acceso varió entre la gran mayoría de los casos que acudió al HCU de Valladolid a través del Servicio de Urgencias, 88 casos -un 69% de los cuales acudieron por propia iniciativa y un 31% fueron remitidos desde los Centros de Atención Primaria-, 1 que se encontraba ingresado en el hospital, 3 casos que procedían de la Consulta Externa de Pediatría; encontrándose otros 3 casos en los que se desconocía la vía de acceso al medio hospitalario. (Figuras 45 y 46)

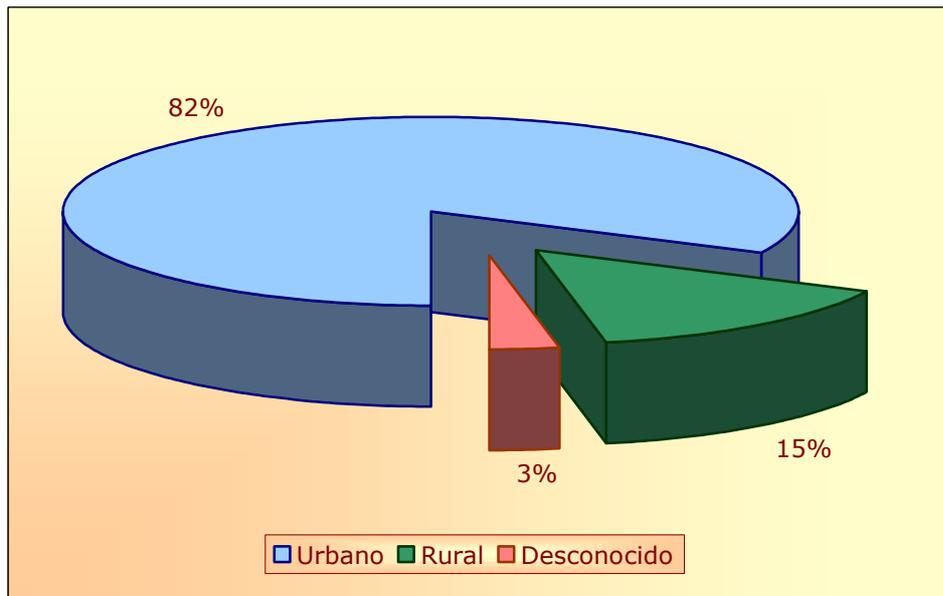


Figura 40-Distribución según la procedencia de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

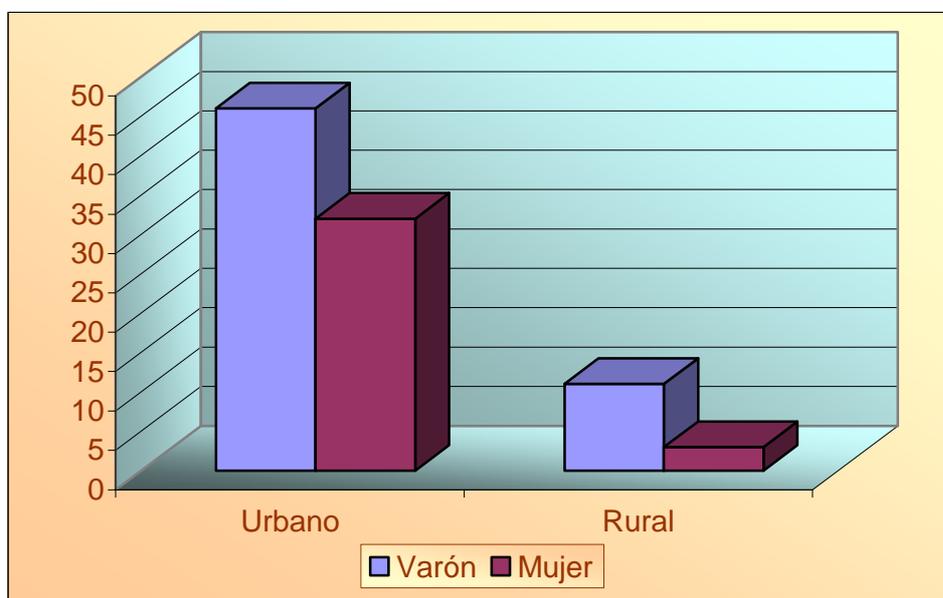


Figura 41-Distribución de la relación género-procedencia de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

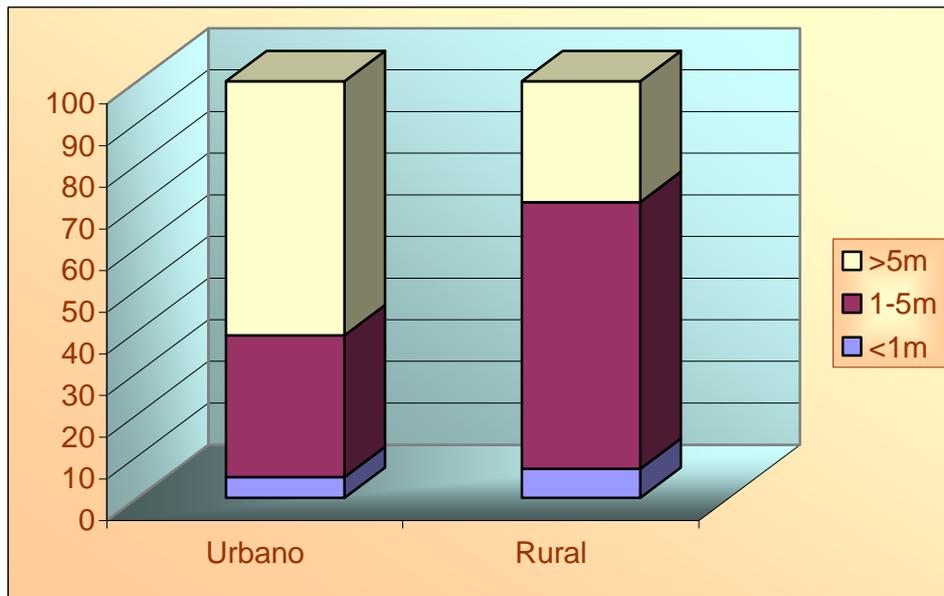


Figura 42-Distribución de la relación edad-procedencia de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000

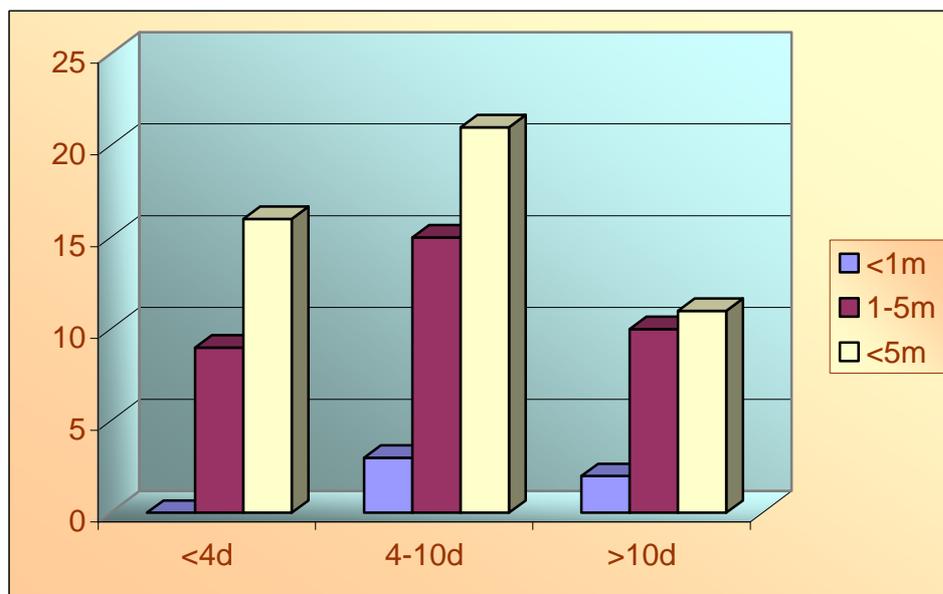


Figura 43-Distribución de la relación edad-días de ingreso de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

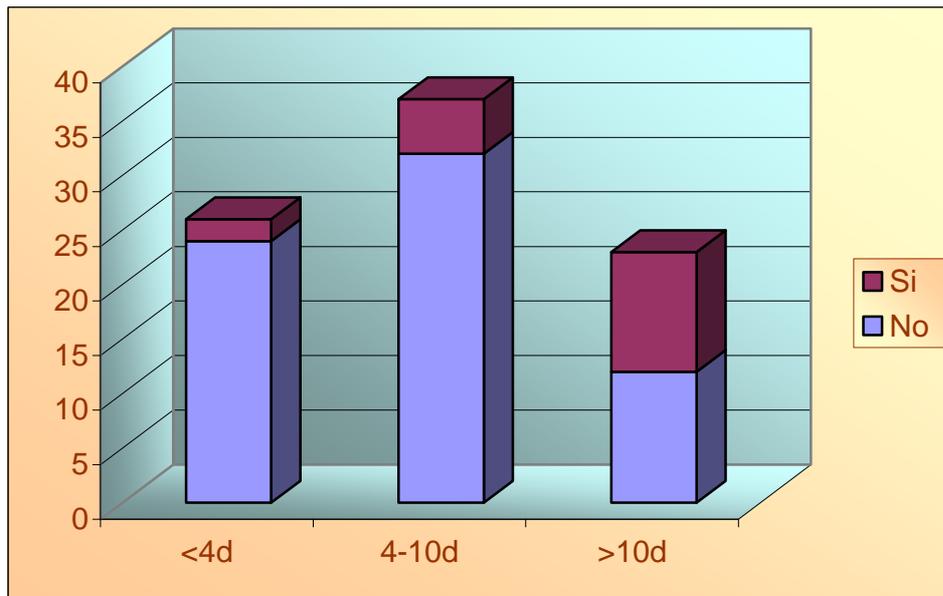


Figura 44-Distribución de la relación gastroenteritis-días de ingreso ($p=0.0006$) de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

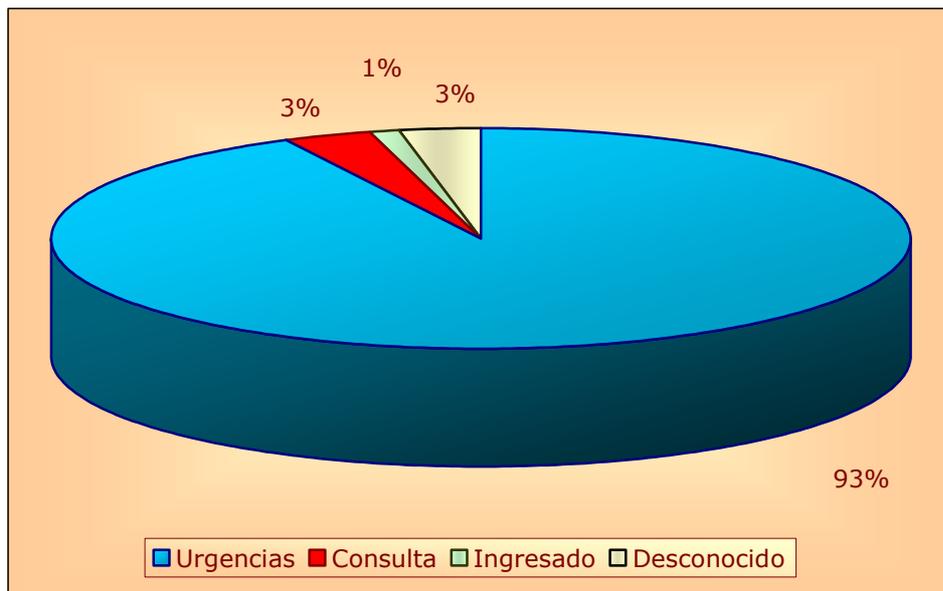


Figura 45-Distribución según la procedencia hospitalaria de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

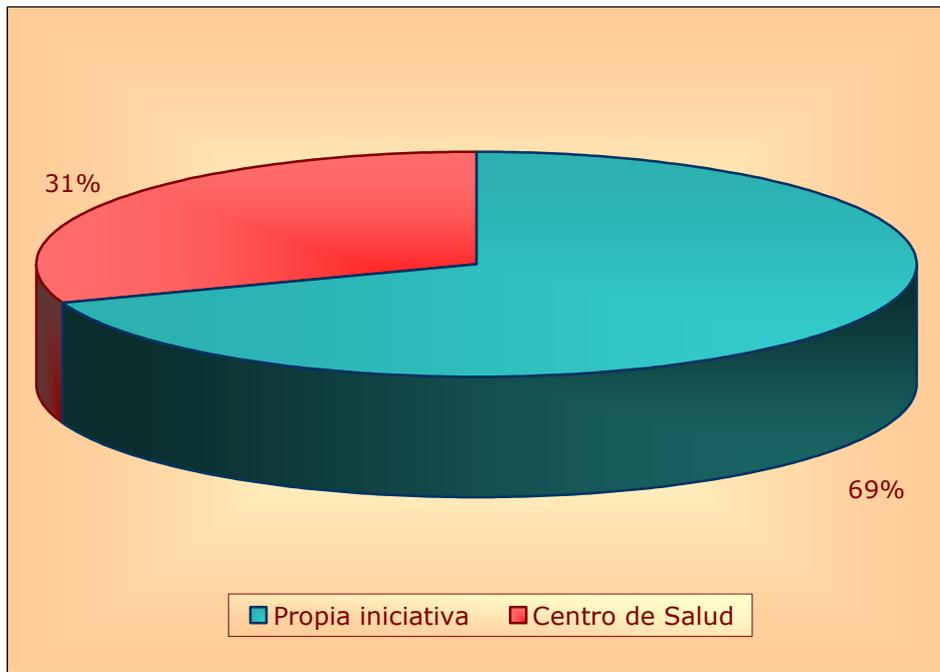


Figura 46-Distribución según la vía de acceso al Servicio de Urgencias de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

En estos casos recogidos, hay que destacar la presencia de unas patologías personales previas que han de ser tenidos en cuenta, dentro de las cuales la más importante a destacar es la presencia de cardiopatía congénita en 6 de los casos; conformando el resto una miscelánea de patologías varias: reflujo gastroesofágico, raquitismo, malnutrición, desmedro, síndrome de Angelman, parálisis de Duchenne-Erb, microcefalia y en un caso sospecha de aspiración de un cuerpo extraño.

A la hora de recoger los antecedentes personales de cada caso seleccionado, se tomaron 5 variables:

1-Edad Gestacional: estableciéndose como prematuridad por debajo de las 37 semanas de gestación, a término entre las 37 y 42 semanas de gestación y como postérmino por encima de las 42 semanas de gestación. Se encontraron 51 casos que habían sido recién nacidos a término (53%), 11 que fueron recién nacidos prematuros (12%) y en 33 casos (35%) no figuraba ningún dato en relación a la edad gestacional en la historia clínica. (Figura 47)

2-Bajo peso al nacimiento: considerándose éste como un peso al nacimiento por debajo de los 2500 gramos. En 90 casos se pudo conocer el peso al nacimiento y en 5 no figuraba en la historia. De esos 90, 16 casos tuvieron bajo peso al nacimiento representando un 18%.

3-Tipo alimentación de recién nacido: se pudo recoger este dato en 74 casos de los 95 (78%). Figurando la administración de lactancia materna de forma exclusiva en cualquier momento y con cualquier duración en un 40% de los casos; lactancia mixta en un 14% de los casos y lactancia artificial exclusiva en el 46% restante de los casos. (Figura 48)

4-Número de hermanos: se pudo recoger en 92 casos de los 95 revisados (97%). No tenían hermanos el 36% de los casos recogidos y si que tenían hermanos el 64% de los casos. (Figura 49)

5-Ambiente familiar catarral: determinando éste como la presencia de algún conviviente del caso con proceso catarral o gripal recogido en la historia clínica. Este dato se pudo constatar en todos menos en 3 casos. Sí que había presencia de ambiente catarral en 35 casos, no figuraba tal ambiente en 52 casos (bien no lo había o bien no se preguntó) y en 5 de los casos los niños vivían en medios de hacinamiento (casa de acogida o muchos convivientes dentro de la misma casa familiar). (Figura 50)

6-Ingreso hospitalario previo reciente: se pudo constatar en 8 casos el antecedente de un ingreso hospitalario anterior reciente, pudiendo considerarse éste como factor de riesgo para el contacto con el VRS.

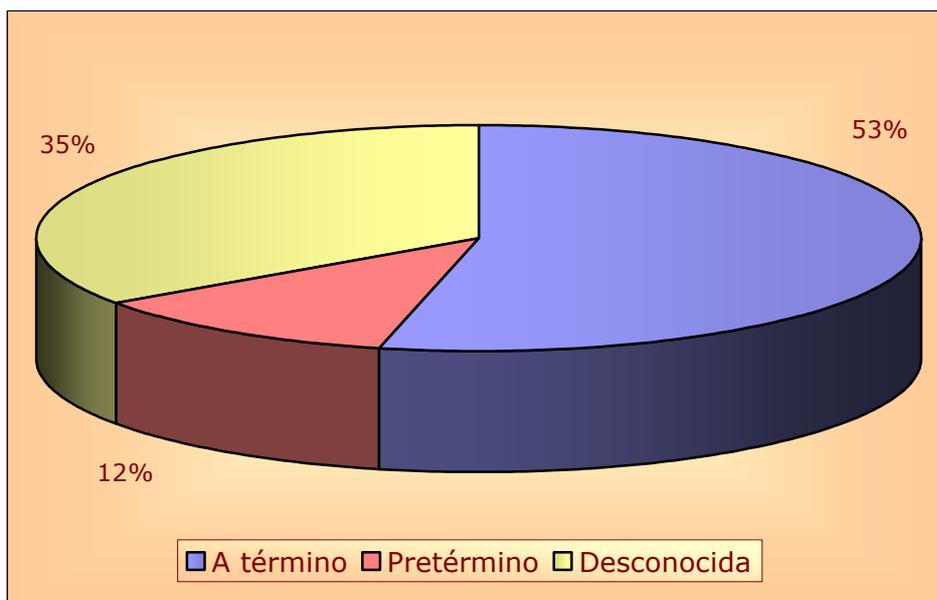


Figura 47-Distribución de la edad de gestación al nacimiento de la muestra.

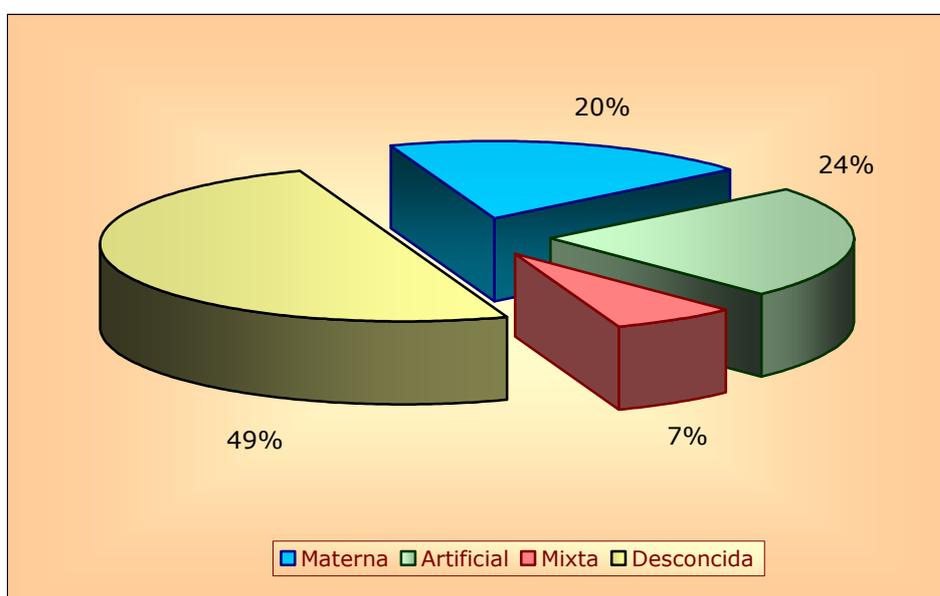


Figura 48-Distribución del tipo de alimentación recibida por la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

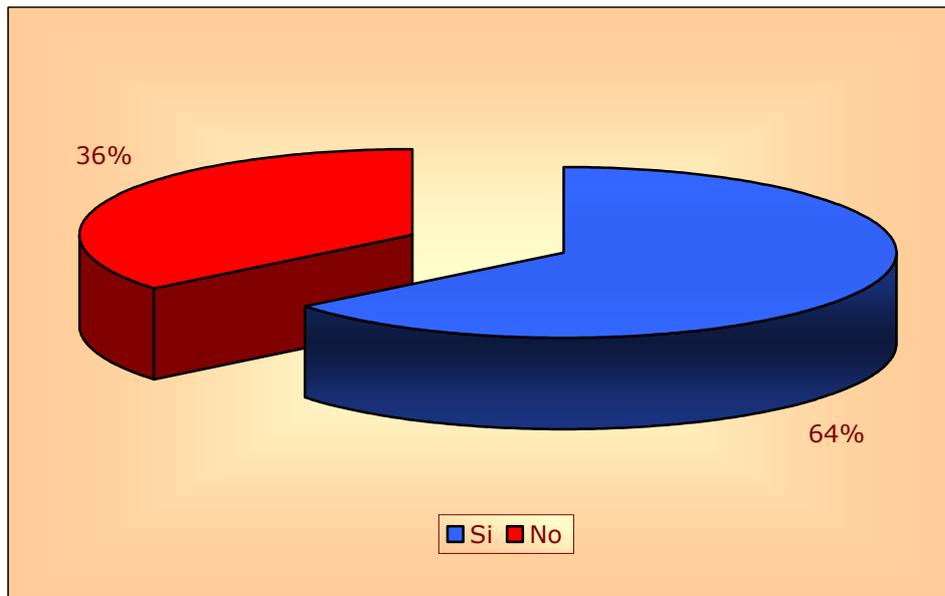


Figura 49-Distribución de la presencia de hermanos en el entorno familiar de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

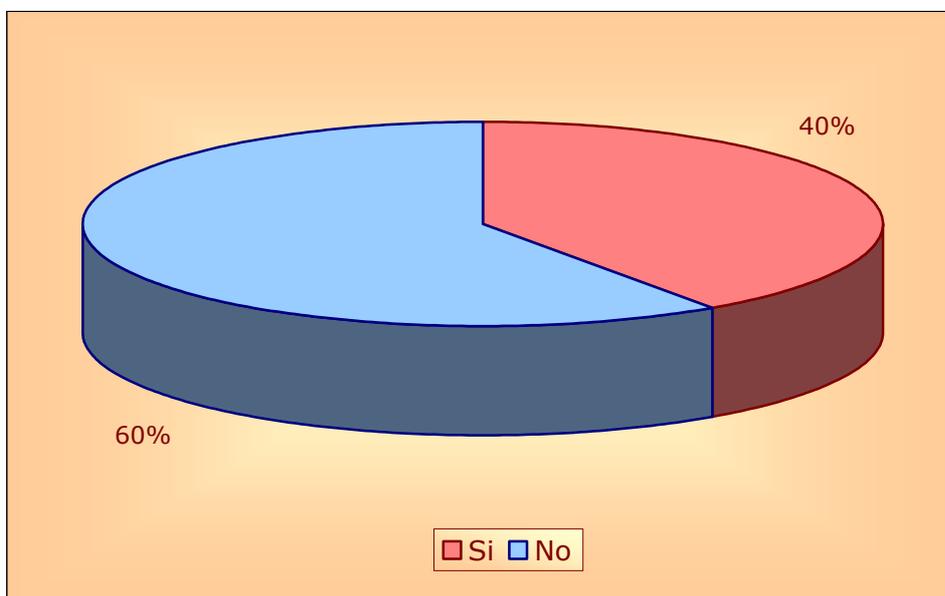


Figura 50-Distribución de la presencia de ambiente catarral en el entorno de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

2.2. Distribución temporal

Al estudiar la presentación estacional de los casos seleccionados, se ha podido ver que los meses con mayor número de ingresos fueron los meses más fríos del año: Enero, Febrero, Noviembre y Diciembre con 81 ingresos (86%) mientras que a Marzo, Abril y Mayo correspondieron los 13 casos restantes (14%). En un caso se desconoce la fecha de ingreso, y no se presentaron casos VRS positivos durante los meses de Junio a Octubre ambos inclusive. (Figura 51)



Figura 51-Distribución temporal de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

2.3. Clínica asociada a la infección

Repasando los motivos llevaron a consulta de los 95 casos seleccionados, se pudo observar que en 81 de los casos (85%) estaba recogida la presencia de mucosidad, en 77 casos (81%) se constató dificultad respiratoria, en 36 casos (38%) se presentó rechazo de tomas o vómitos, en 35 casos (37%) fiebre, en 20 casos (21%) con un empeoramiento del cuadro clínico previo, en 9 casos (9.5%) diarrea, en 8 casos (8.5%) cianosis, en 3 casos (3%) presentaban irritabilidad, en 1 caso (1%) pérdida de peso y en 6 de los casos (6%) se desconocía cual fue su clínica en el momento de su infección por el VRS. (Figura 52)

Relacionando el rechazo de tomas con la edad de los casos, se encontró una relación estadísticamente significativa ($p=0.0035$). (Figura 53)

En la exploración clínica realizada al ingreso de cada uno de los casos destacaba (Figura 54):

-Afectación del Estado General, que estaba alterado en 41 pacientes (43%), siendo leve en un 19%, moderado en un 20% y en un 4% de los casos estaba alterado de forma severa. (Figura 55)

-Taquicardia presente en 35 casos (37%).

-Taquipnea que se objetivó en 62 casos (65%).

-Trabajo respiratorio en 67 casos (70.5%). Este trabajo respiratorio en 45 casos (47%) fue catalogado como leve, en 21 casos (22%) como moderado y en 1 caso (1%) como severo. (Figura 56)

-En 74 casos (78%) se encontraron alteraciones a la auscultación pulmonar, siendo en 54 ocasiones sibilancias (57%), en 14 ocasiones hipoventilación pulmonar (6%) y en 6 ocasiones crepitantes (15%). (Figura 57)

-La realización de exploración radiológica de tórax se pudo constatar en 71 de los casos (75%). De éstos, 35 casos presentaron patrones compatibles con broncoespasmo, en 10 casos el patrón era de condensación del parénquima pulmonar (compatible con neumonía), en 25 casos la exploración radiológica no presenta alteraciones patológicas y en 1 caso se detectó un patrón óseo compatible con raquitismo. (Figura 58)

Se pudieron recoger la presencia de una serie de infecciones asociadas a la infección por VRS, destacando la gastroenteritis aguda en 18 casos, seguida por conjuntivitis aguda en 7 casos, en 4 casos bacteriemia o sepsis y en 1 caso de Gripe A. (Figura 59)

Como complicaciones presentadas durante la infección por VRS, destacaron la otitis media aguda (OMA) en 17 de los casos, la neumonía en 10 casos y la otitis media serosa (OMS) en otros 2 casos. (Figura 60)

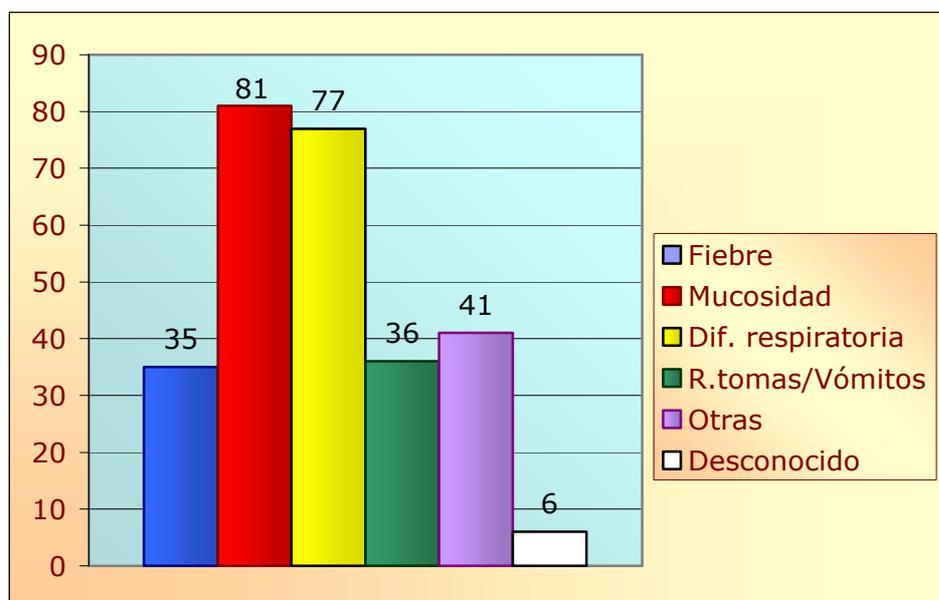


Figura 52-Distribución según el motivo de consulta de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

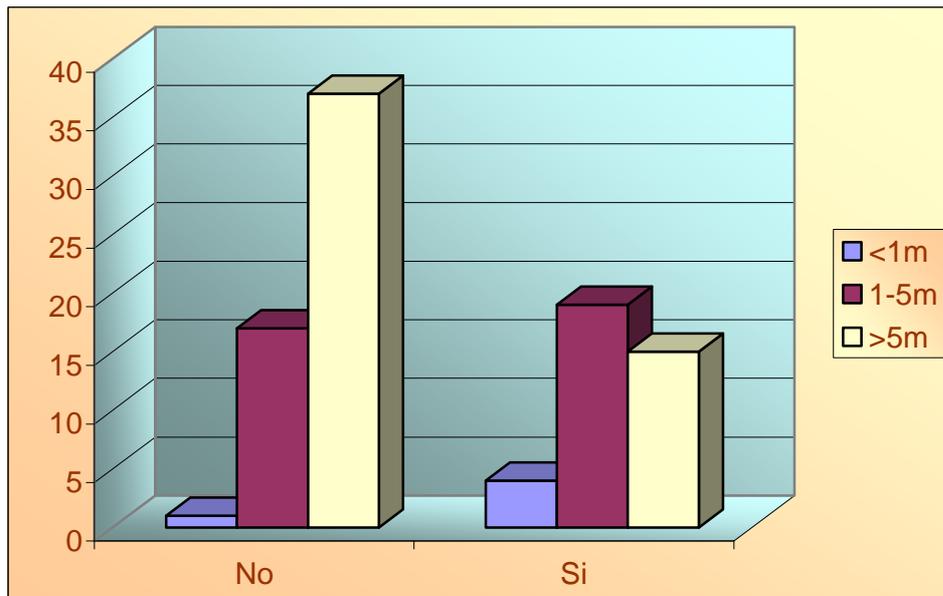


Figura 53-Distribución según la relación rechazo de tomas-edad de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

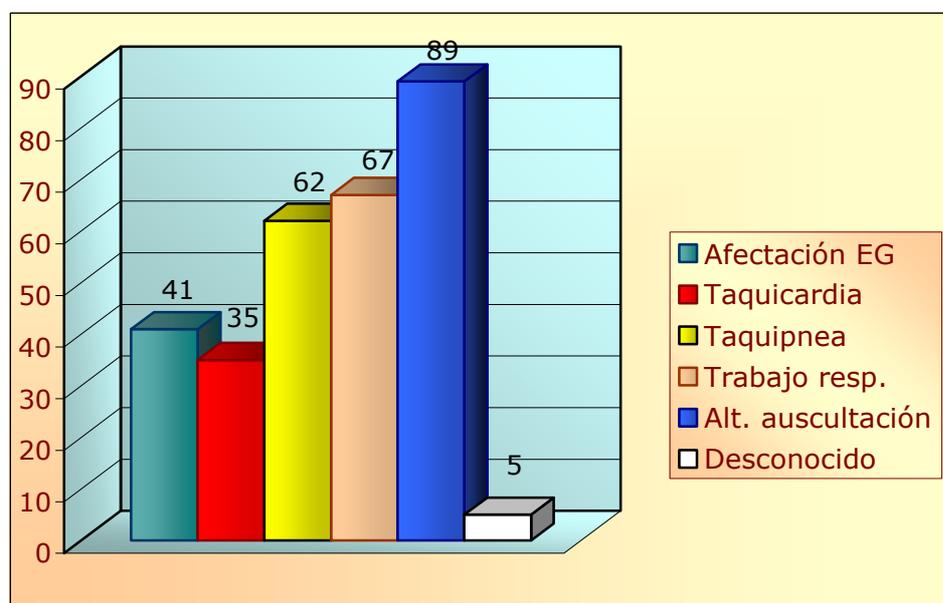


Figura 54-Distribución según la exploración clínica al ingreso de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

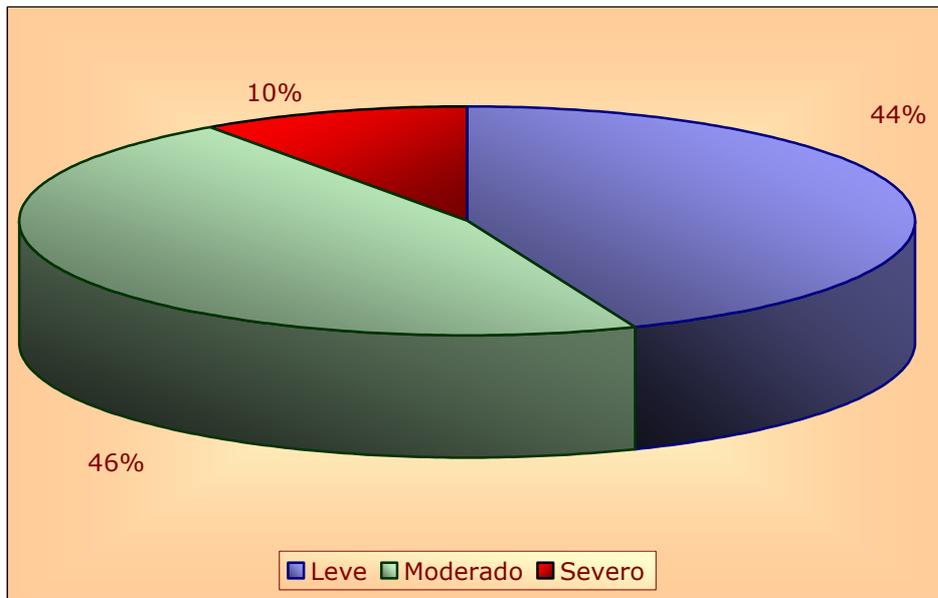


Figura 55-Distribución según el grado de afectación del estado general que presentaba la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

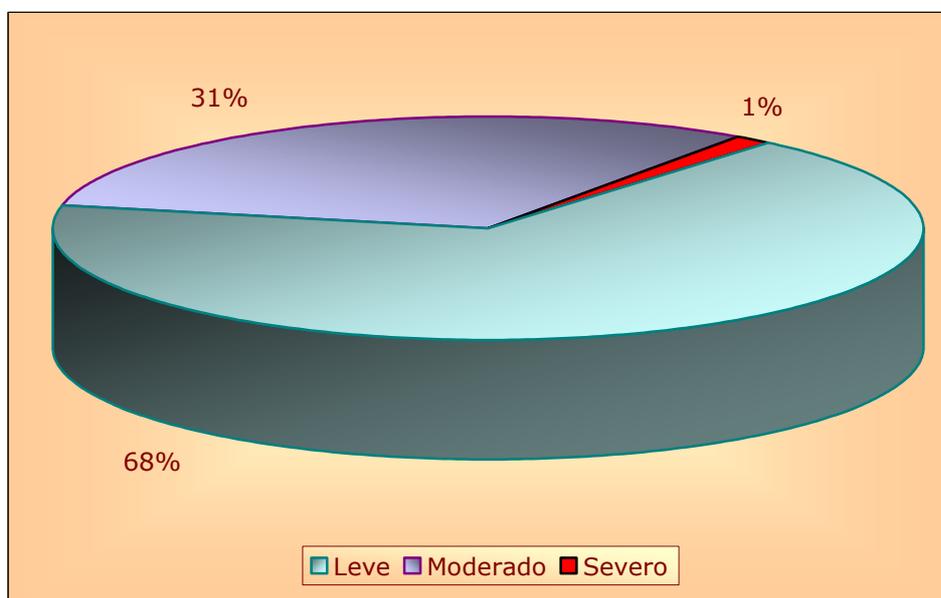


Figura 56-Distribución según el grado de trabajo respiratorio que presentaba la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

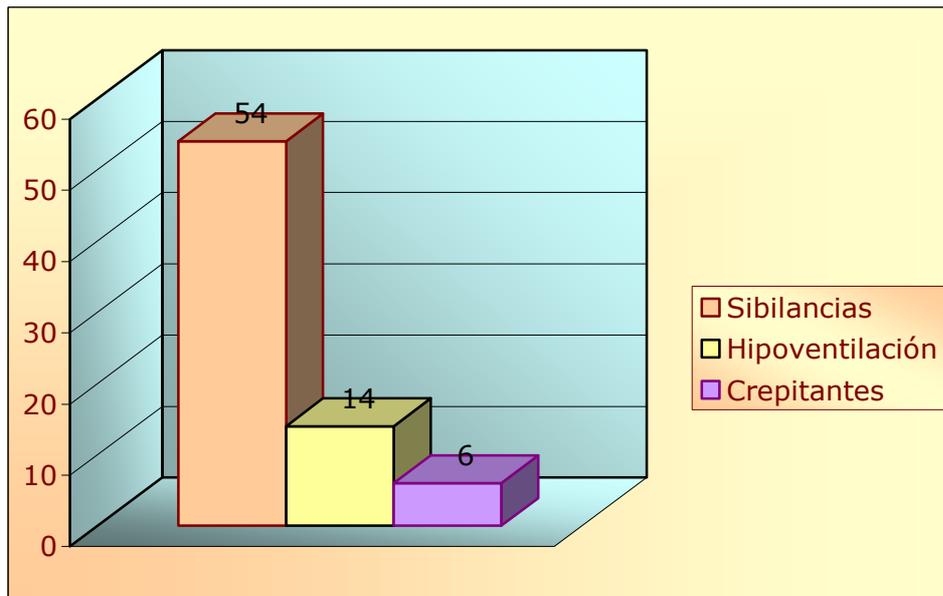


Figura 57-Distribución según las alteraciones en la auscultación que presentaba la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

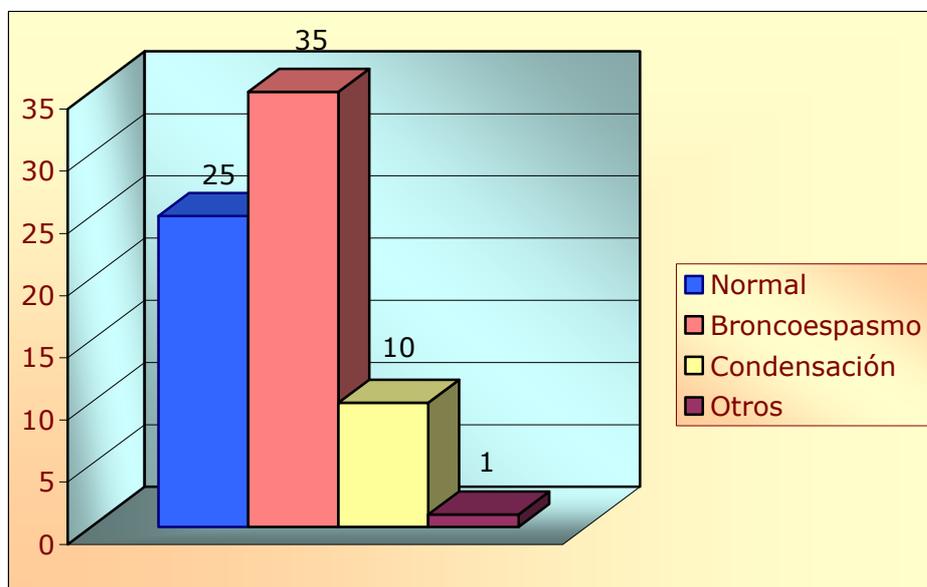


Figura 58-Distribución según las alteraciones en la radiología de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

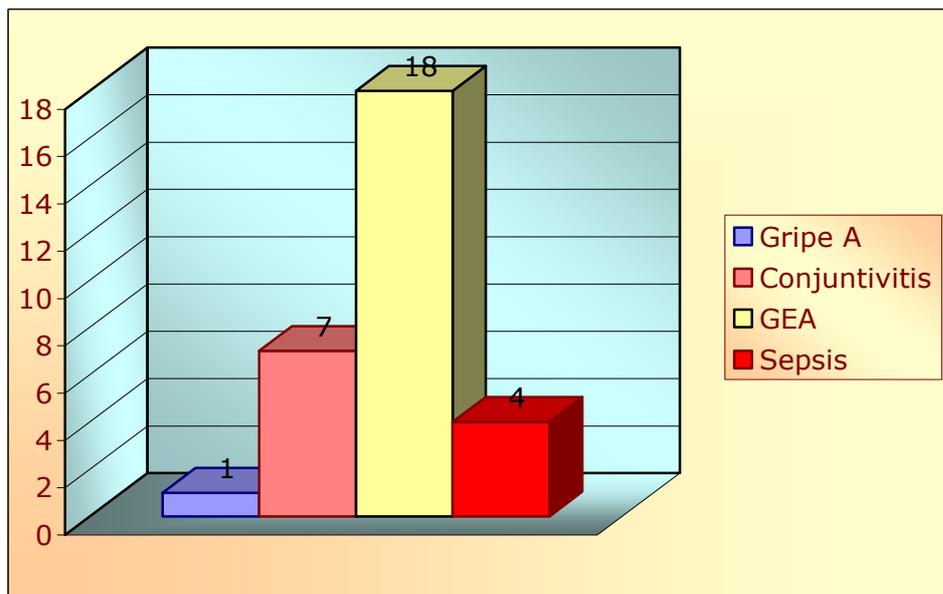


Figura 59-Distribución de la presencia de coinfecciones asociadas en la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

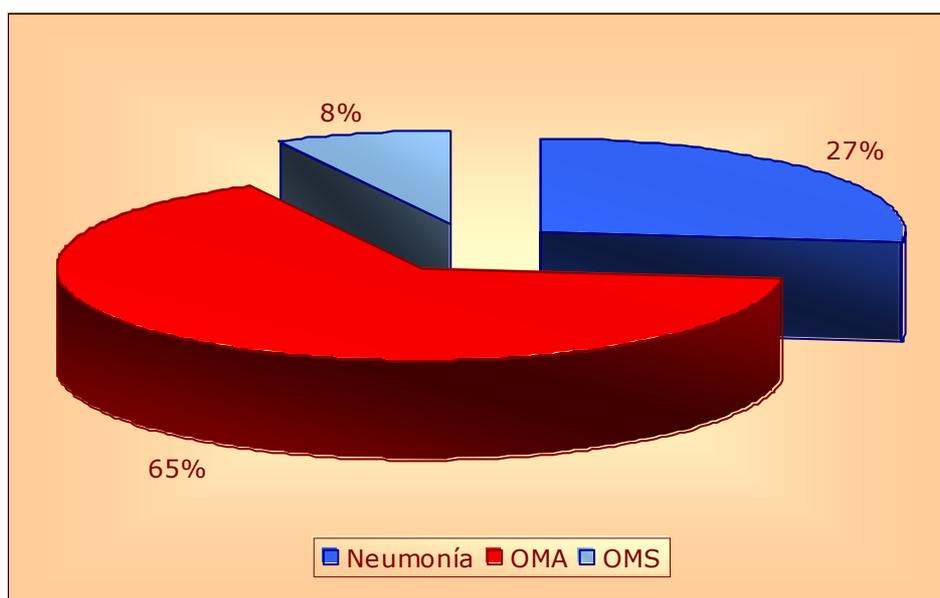


Figura 60-Distribución de la presencia de complicaciones asociadas a la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

2.4. Métodos diagnósticos

En todos los casos recogidos se ha podido determinar la prueba o pruebas que fueron realizadas para detectar la presencia del VRS. (Figura 61)

Hablando en términos generales, la prueba que con más frecuencia resultó positiva fue la inmunofluorescencia directa (IFD) en un 46% de los casos, seguida del enzimoimmunoensayo (EIA) en un 30% y por último, el cultivo celular con un 24%.

Si hacemos referencia a las pruebas que resultaron positivas, bien solas o bien en asociación con otras, tendríamos: al cultivo celular positivo en 12 (13%) de los casos, al EIA en 3 de los casos (3%), a la IFD en 33 de los casos (35%), la asociación cultivo+EIA en 8 casos (8%), la asociación cultivo+IFD en 4 casos (4%), la asociación EIA+IFD en 22 casos (23%) y por último, la asociación cultivo+EIA+IFD en 13 (14%) de los casos. (Figura 62)

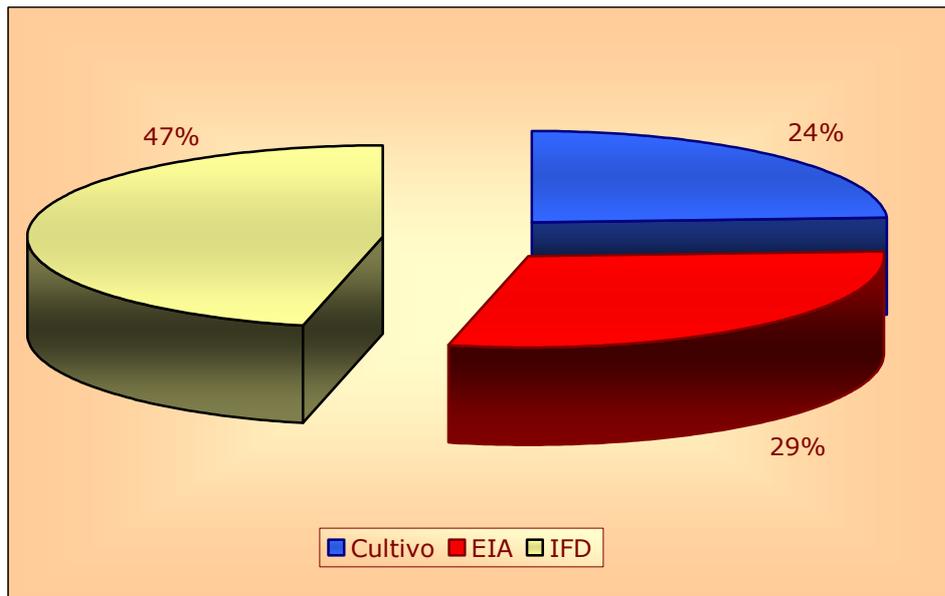


Figura 61-Distribución de las pruebas diagnósticas positivas de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

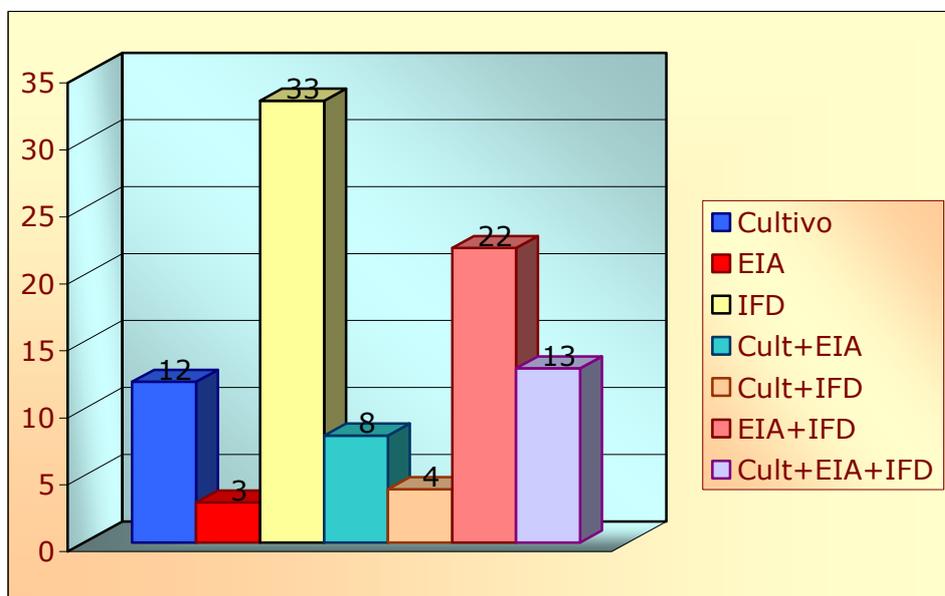


Figura 62-Distribución según las pruebas diagnósticas positivas de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

2.5. Tratamiento de la infección

En la revisión de los 95 casos seleccionados, se procedió a recoger también la referencia hecha en la historia clínica al tratamiento antibiótico previo realizado al ingreso en cada uno de los casos. Este tratamiento previo fue constatado en 46 de los casos (52%). (Figura 63)

Los antibióticos más usados fueron las Cefalosporinas (23%), luego las Penicilinas en un 15% y por último los Macrólidos en un 9%. La vía de administración preferente fue la oral en el 70% de los casos, seguida de la vía parenteral en un 21 %, desconociéndose la vía de administración del antibiótico en el 9% de los casos. (Figura 64)

Así mismo se procedió a recoger el tratamiento inicial al ingreso que recibieron, pudiendo hacerlo en 90 de los 95 casos seleccionados. (Figura 65)

64 de los casos se trataron con antibióticos. Todos salvo 2 casos, por vía parenteral. Predomina el uso de Cefalosporinas en un 78%, seguido de las Penicilinas (16%), Aminoglucósidos en un 5% y Macrólidos con un 1%. En 5 de estos casos el antibiótico se administró en el curso de la evolución de la enfermedad y no desde el momento del ingreso en el HCU de Valladolid. (Figura 65)

82 de los casos revisados recibieron tratamiento con broncodilatadores β_2 inhalados (salbutamol). En 55 de estos casos (67%) este tratamiento inhalado fue asociado a corticoides sistémicos.

22 casos recibieron tratamiento con bromuro de ipratropio inhalado, estando en todos los casos este tratamiento asociado al tratamiento con salbutamol inhalado.

Con corticoides fueron tratados 77 de los casos seleccionados, en un 29% se empleó la vía inhalada, un 28% la vía sistémica y en un 43% se combinaron ambas vías de administración. Siempre que se usaron los corticoides por vía sistémica, éstos fueron asociados al tratamiento con broncodilatadores β_2 inhalados, salvo en una ocasión que se asociaron a bromuro de ipratropio. (Figura 66)

La administración de oxígeno se pudo constatar en 22 de los casos recogidos. Sólo en una ocasión (5%) figura el oxígeno como tratamiento único no asociado a las otras medicaciones; en 9 (40%) casos se asociaba a broncodilatadores β_2 inhalados, bromuro de ipratropio y corticoides sistémicos; en 7 ocasiones (31%) sólo se asocia a broncodilatadores β_2 inhalados; en 3 casos (14%) a broncodilatadores β_2 inhalados y corticoides sistémicos; en 1 ocasión (5%) a broncodilatadores β_2 inhalados y bromuro de ipratropio y en 1 ocasión (5%) se asociaba a bromuro de ipratropio y corticoides sistémicos. (Figura 67)

La asociación de broncodilatadores β_2 inhalados con bromuro de ipratropio inhalado y con corticoides sistémicos se registra en 17 ocasiones.

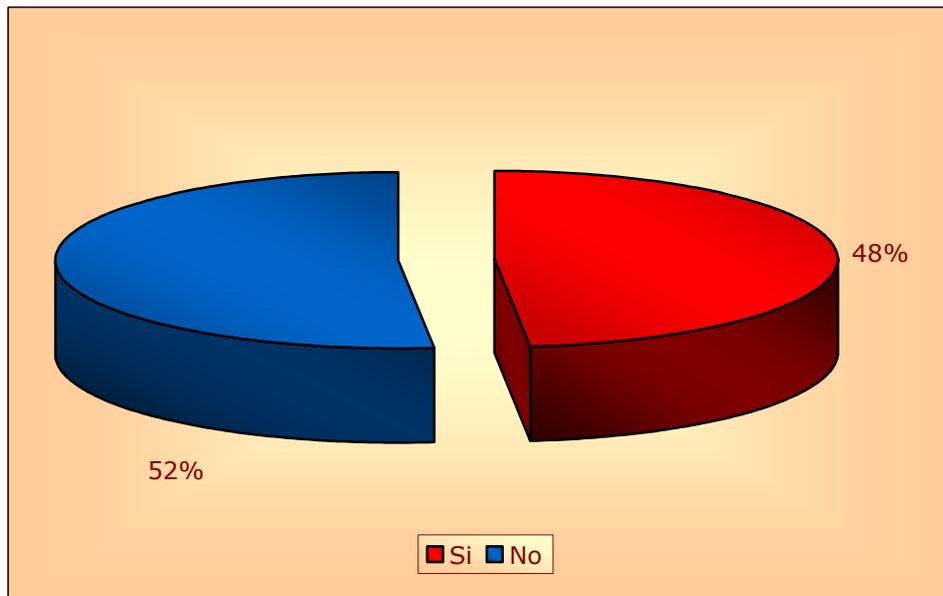


Figura 63-Distribución según el tratamiento antibiótico recibido previo al ingreso de la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

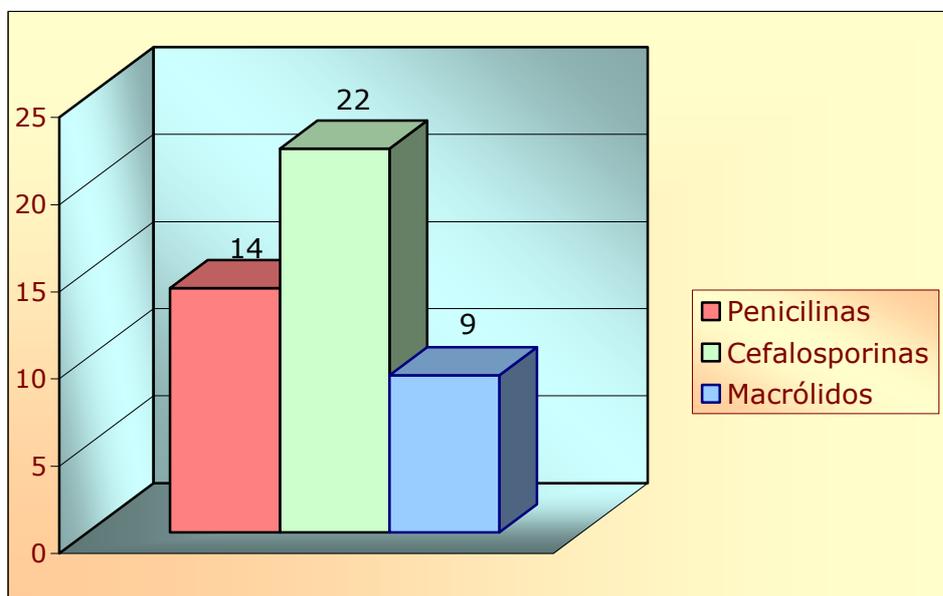


Figura 64-Distribución según el tipo de antibiótico previo utilizado en la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

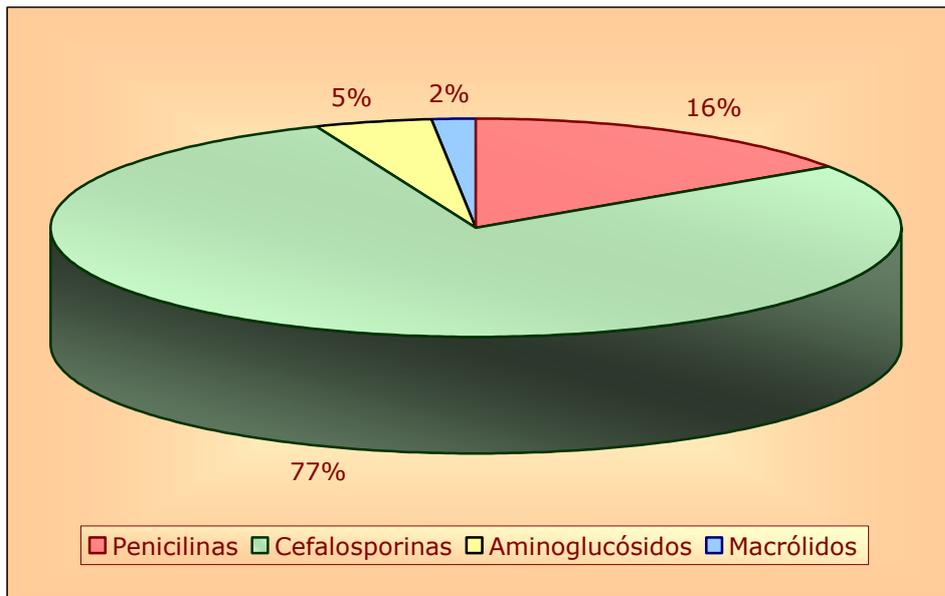


Figura 65-Distribución según el tipo de antibiótico utilizado durante el ingreso en la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

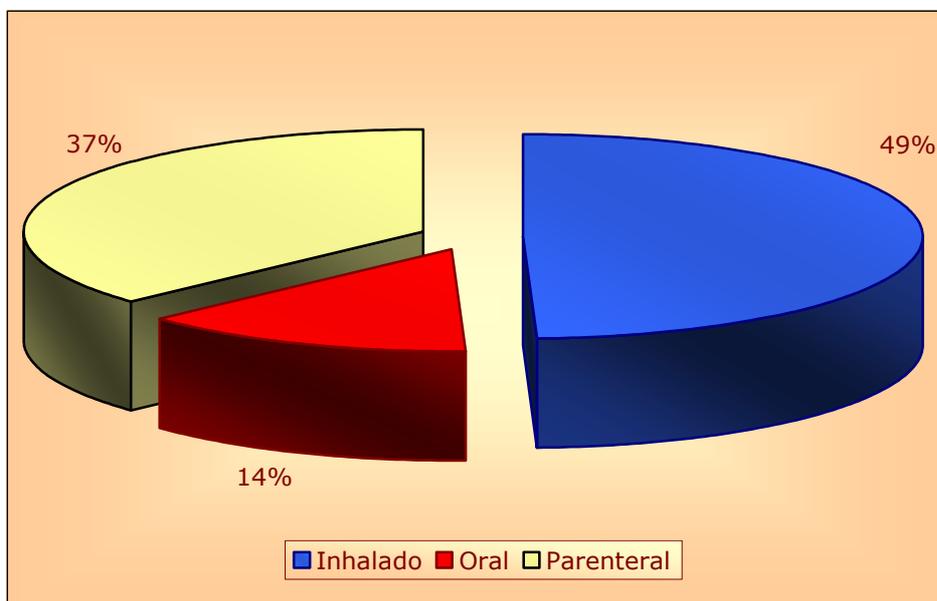


Figura 66-Distribución según el tratamiento con corticoides en la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

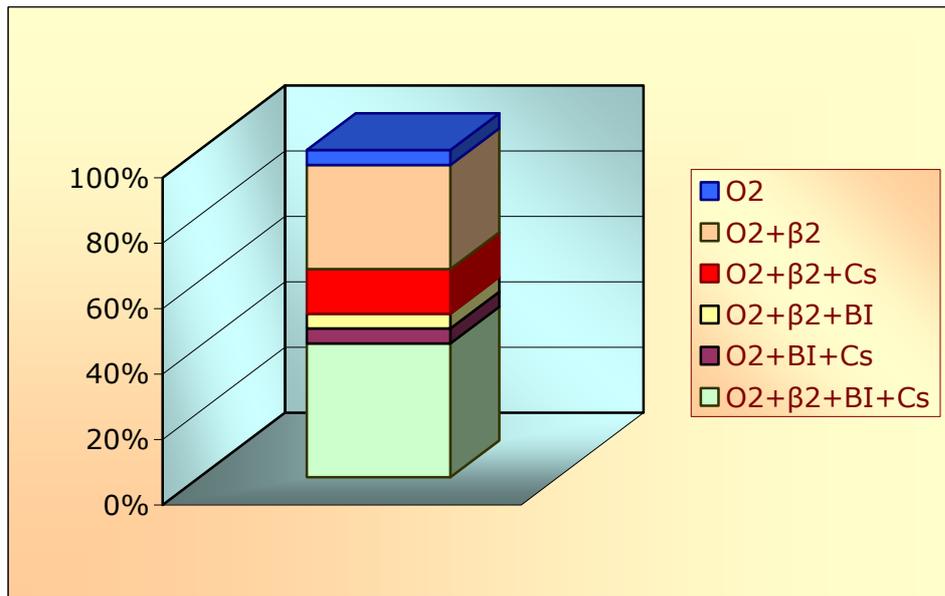


Figura 67-Distribución según el tipo de tratamiento inhalatorio en la muestra seleccionada entre los casos VRS positivos del HCU de Valladolid en el periodo 1990-2000.

VI. DISCUSIÓN

El Virus Respiratorio Sincitial es el agente causal dominante, aunque hay también otros virus implicados (rinovirus, adenovirus, metapneumovirus, virus de la gripe, parainfluenza, enterovirus y bocavirus), de la bronquiolitis aguda tanto de forma aislada como en coinfección, independientemente del área geográfica que consideremos^{2-5,333}.

La bronquiolitis aguda es una enfermedad muy frecuente en la infancia que origina una gran demanda asistencial tanto en atención primaria como en los servicios de urgencias y hospitalización^{24,78,79}.

En todas las regiones geográficas estudiadas a nivel mundial se han hallado evidencias de infección por VRS, que incluso en condiciones climáticas muy diferentes parece tener características similares. Se puede decir, por lo tanto que las infecciones por VRS tienen una distribución mundial^{4,6,24,25,67,68}.

La mayoría de los pacientes se infectan por el VRS en los primeros años de vida, aunque solo un parte de ellos presentan clínica de bronquiolitis aguda. Nuestro estudio está constituido por casos cuya procedencia en su mayoría (77%) pertenecía a pacientes ingresados en medio hospitalario. No podemos evaluar la frecuencia y el riesgo de las infecciones por VRS a través de este estudio, ya que sería una estrategia incompleta y probablemente sesgada, puesto que el criterio de ingreso hospitalario suele presentar una gran variabilidad³³⁴.

En el presente estudio, la distribución etaria de los casos de infección por VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid entre los años 1990 y 2000, refleja una clara tendencia a aparecer en las edades más tempranas de la vida, en pacientes menores de un año con especial

incidencia en los menores de 6 meses, lo cual coincide con los estudios existentes que reflejan que la bronquiolitis por VRS es la principal causa de ingreso por infección respiratoria aguda de vías bajas en el niño menor de 2 años, más frecuentemente entre los 3-6 meses de vida, con una incidencia en aumento en los últimos años^{133,134}. Si bien en nuestro estudio, el grupo de pacientes menores de 3 años supuso el 94% del total, la posibilidad de que se presenten reinfecciones permanece durante la edad escolar (2.4%) y la edad adulta (3.6%), ya que la infección por VRS no genera una respuesta inmunitaria que proteja frente a las nuevas infecciones, no habiendo ningún grupo etario protegido completamente frente a ella. Diversos estudios hacen hincapié en la importancia que el VRS tiene como agente patógeno durante la edad adulta, sobretodo en coinfección con otros virus, tratándose de infecciones más duraderas en el tiempo que las causadas por otros agentes respiratorios^{130-2,239,335}.

Estudios epidemiológicos y experimentales realizados en los últimos años sugieren la capacidad de este virus para causar patología pulmonar crónica, que se manifiesta fundamentalmente en forma de sibilantes recurrentes (enfermedad reactiva de las vías aéreas postbronquiolitis) y que puede persistir hasta una década después de la infección aguda^{218,276,335}.

La distribución por géneros en nuestro estudio muestra que entre el grupo de los casos VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid durante el periodo 1990-2000, muestra un predominio masculino en todos los grupos etarios (60%) salvo en el grupo de pacientes mayores de 55 años donde el predominio es femenino. Estas diferencias entre géneros se han visto mayores cuanto más tempranos son los grupos de edad. Este incremento de susceptibilidad en los varones ha sido recogido en la literatura y permanece aún hoy sin aclarar su causa^{6,37}. En algunas series, esta mayor incidencia en el grupo de los hombres se ha asociado

a una mayor gravedad clínica de la infección. En el presente estudio, a pesar de registrarse más casos en el grupo de los varones, los porcentajes de ingreso hospitalario fueron muy similares, acercándose ambos al 77%, pudiendo esto inducir a pensar que la gravedad del proceso clínico en uno y otro grupo también fue similar. En el grupo de mayor edad esta tendencia no se puede verificar ya que el número total de casos disponibles es muy pequeño, además, hay que tener en cuenta que en términos demográficos, el porcentaje de mujeres frente al de hombres en estos rangos de edad, crece considerablemente.

Se ha observado que los brotes de infección por VRS son anuales. En nuestro medio, región templada al norte del Ecuador, la estación VRS se prolonga de Noviembre a Marzo con picos de infección que ocurren en Enero; en los años de baja prevalencia estos picos se retrasan hasta Marzo o Abril^{69,75,96-100}.

*Alonso et al.*³³⁶ han analizado las tendencias de comienzo y final de las epidemias de bronquiolitis aguda por VRS en un área de Castilla y León, observando que las epidemias comienzan en Septiembre y Octubre, el pico más alto se observa en Enero y el más bajo en Agosto, terminando en Febrero, Marzo y Abril. Documentaron así mismo, que cuando la temporada epidémica empezaba antes, también terminaba antes. Observaron un periodo cíclico cada 12 meses a lo largo de los años estudiados demostrando un ritmo circadiano.

En nuestro estudio, también se ha podido observar todos los años una distribución en dos brotes, al principio y al final del año coincidiendo con los meses más fríos y húmedos y estos brotes tienen una duración media de 6 meses (de Octubre a Abril); así mismo y coincidiendo con otros autores^{75-77,79,80} se puede observar todos los años un parón o lapsus estacional libre de casos VRS positivos,

coincidiendo con los meses de temperaturas más altas y menor humedad, de Julio a Octubre.

La morbilidad aguda de la bronquiolitis aguda (consultas en atención primaria y urgencias, ingreso hospitalario, necesidad de ingreso en UCI y ventilación mecánica en las formas más graves) y el riesgo de mortalidad se incrementa en los niños de menor edad y en aquellos que tienen problemas médicos previos (prematuridad, cardiopatía congénita, displasia broncopulmonar, inmunodeficiencia, etc.)^{122-124,335}.

En nuestro caso el motivo aludido para el ingreso hospitalario fue la patología de vías respiratorias bajas, en un 89% de los pacientes, llamando la atención 4 casos cuya sintomatología no era la del proceso respiratorio en curso (endocarditis, gastroenteritis aguda, traumatismo y sepsis).

La mayoría de los casos son autolimitados, persistiendo los síntomas entre 3-7 días, pudiendo ser manejados en su domicilio con medidas sintomáticas. La decisión de ingresar a un paciente con bronquiolitis aguda tiene un carácter multifactorial no correlacionándose siempre con la gravedad del paciente, influyendo factores como la comorbilidad previa, el grado de afectación del paciente y las condiciones socio-familiares; lo mismo ocurre con la duración de la estancia hospitalaria³³⁴.

Así mismo se constató en la segunda parte del estudio, que los ingresos hospitalarios generados por la infección por VRS tuvieron una duración media de 7.37 días, con una estancia mínima de 1 día y una estancia máxima de 19 días.

Pese a su aparente simplicidad, el VRS pone en marcha mecanismos inmunopatogénicos complejos que dificultan los intentos de desarrollar

una vacuna para la prevención de esta infección. El grado de afectación originado por el VRS es el resultado de una compleja interacción entre la agresión inducida directamente por el virus y el daño causado por la respuesta inmune, considerando además el papel que el propio virus tiene en la modulación inmunopatológica³³⁵.

Los principales factores de riesgo de ingreso por bronquiolitis aguda por VRS son la displasia broncopulmonar, la enfermedad pulmonar crónica, las cardiopatías congénitas, la prematuridad y la edad inferior a 3-6 meses^{136,333,337}. Según *Figuerola et al.*³³⁸, la mayor parte de los niños hospitalizados no presentan ninguna patología predisponente, por lo que se postula la existencia de otros factores que contribuyan a la severidad de la afección, como la presencia de hermanos mayores o asistencia a guardería, el sexo masculino, la exposición al tabaco sobretodo durante la gestación, la lactancia materna durante menos de 1-2 meses y variables asociadas a bajo nivel socioeconómico. Aunque la variabilidad en las manifestaciones clínicas dependa de una combinación de estos factores, sólo se han encontrado pequeñas diferencias en la gravedad de la enfermedad según la carga viral o el serotipo VRS participante, lo que se atribuye a la distinta cinética de replicación viral o a la inducción de cantidades diferentes de citocinas proinflamatorias. Por ello, en los últimos años la investigación se está centrando en factores específicos dependientes del huésped y relacionados con la heterogenicidad genética que pueda explicar dicha variabilidad.

De todos los factores de riesgo de ingreso, en nuestro estudio, en su segunda parte, se constató que en un 6.3% casos la presencia de cardiopatía congénita, un 12% de niños que habían sido prematuros y un 30% de los casos (total del estudio) tenían una edad menor a los 3 meses de vida. Del resto de factores que pueden influir en la gravedad de la clínica de la infección por VRS, parece oportuno destacar que la lactancia materna aparecía como antecedente en un 54% de los casos

de la segunda parte del estudio, si bien no se especificaba su duración en el tiempo; el 64% de los casos presentaba algún hermano y el ambiente catarral en el hogar se apreció en un 37% de los casos.

El espectro clínico patológico de la afectación respiratoria de vías bajas por VRS oscila entre dos patrones: la enfermedad obstructiva (bronquiolitis) y la enfermedad restrictiva (neumonía)³³⁷.

La bronquiolitis aguda es una entidad respiratoria de diagnóstico clínico, que se presenta habitualmente con rinitis, dificultad respiratoria, tos, rechazo de alimentación, irritabilidad, y en lactantes muy pequeños, episodios de apnea. Toda esta clínica junto con la existencia de sibilantes y/o crepitantes en la auscultación, permiten realizar el diagnóstico^{20,226,334}.

El ingreso hospitalario suele estar motivado por la comorbilidad previa, la necesidad de recibir cuidados como la administración de oxígeno suplementario, la aspiración de secreciones o la alimentación enteral o parenteral y las condiciones socio-familiares. Excepcionalmente, estos pacientes pueden presentar fallo respiratorio y precisar asistencia respiratoria. En función del nivel de cuidados que precise el paciente se pueden clasificar las bronquiolitis agudas en leves (manejo ambulatorio), moderadas (hospitalización) o graves (ventilación asistida)³³⁴.

La sintomatología que presentaron los casos diagnosticados en el HCU de Valladolid en el periodo 1999-2000, muestra una buena concordancia con la sintomatología reflejada en otros trabajos^{20,226,334}. Existe un claro predominio de los procesos de patología infecciosa de vías respiratorias bajas (mucosidad, dificultad respiratoria, rechazo de tomas, fiebre) por encima de todas los demás, correspondiendo en su mayor parte a clínica compatible con bronquiolitis aguda. En la mayoría

de los casos la auscultación pulmonar mostraba signos de enfermedad obstructiva pulmonar como sibilancias e hipoventilación, siendo minoría los que mostraban signos de enfermedad restrictiva, crepitantes. Destacar que en nuestro estudio, en el grupo de pacientes mayores de 3 años, todas las infecciones por VRS venían referidas a entidades clínicas diferentes a la bronquitis y la bronquiolitis.

En la segunda parte de nuestro estudio se pudo apreciar que la mayoría de los casos estudiados presentaban clínica respiratoria leve-moderada.

Estos datos confirman que la presentación como un cuadro asintomático de la infección VRS en niños es extremadamente rara ^{17,20,226}.

*Alonso et al.*³³⁶, también pudieron ver que la comorbilidad entre bronquiolitis, otitis y gastroenteritis era muy frecuente.

En nuestro caso, los resultados coinciden con el estudio de *Alonso et al.*, destacando la comorbilidad de la infección por VRS con la otitis, gastroenteritis y neumonía. Encontrándose diferencia estadísticamente significativa al relacionar gastroenteritis aguda con estancia media hospitalaria, siendo esta mayor de 10 días, por encima de la media del tiempo de hospitalización por infección VRS. Es de destacar entre las complicaciones asociadas a la infección por VRS, la presencia de bacteriemia o sepsis en un 7% de los casos revisados en la segunda parte del estudio.

Dado que los signos y síntomas de bronquiolitis aguda no permiten diferenciar los casos producidos por el VRS del resto de agentes etiológicos, este diagnóstico requiere de la identificación del virus en las secreciones respiratorias. Las técnicas diagnósticas disponibles son

el cultivo viral, la seroconversión de anticuerpos (inmunofluorescencia, enzimoimmunoensayo y reacción de fijación del complemento) y las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos con la reacción en cadena de la polimerasa. No existe consenso sobre la utilidad de las pruebas de diagnóstico rápido de VRS, no recomendándose el empleo rutinario de éstas en los pacientes con bronquiolitis aguda, si bien esto cambia si nos encontramos en un medio hospitalario y con pacientes menores de 3 meses, ya que permiten la vigilancia epidemiológica y el aislamiento del paciente hospitalizado. Al mismo tiempo ayudan a simplificar el manejo diagnóstico y terapéutico de los lactantes pequeños con formas febriles y orientar en el manejo del paciente grave, no habiendo hasta el momento ningún ensayo clínico que haya probado la eficacia del uso sistemático de estas pruebas en pacientes hospitalizados³³⁹.

En nuestro laboratorio de referencia, Servicio de Microbiología del HCU de Valladolid, las técnicas empleadas durante el periodo estudiado fueron el cultivo viral y de las pruebas de seroconversión de anticuerpos la inmunofluorescencia y el enzimoimmunoensayo.

El cultivo viral es considerado clásicamente como la prueba de referencia pero con alto coste y laboriosidad, así como su baja sensibilidad relativa³³⁹. En nuestro laboratorio sirvió como método diagnóstico en el 35% de los casos estudiados, bien solo o en asociación con el resto de pruebas. Nuestro estudio mostró a lo largo del periodo que abarcaba, un rendimiento menor que cada una de las técnicas de detección de antígenos por separado, debido probablemente a las dificultades que supone para el laboratorio la recogida de muestras, su manejo y el desarrollo de la técnica.

La inmunofluorescencia es una técnica que permite detectar y localizar antígenos en células o tejidos. Es un método rápido, sensible y muy específico. Ha demostrado una aceptable sensibilidad y

especificidad en relación al cultivo viral, pero su realización es compleja, asocia cierta demora y depende de laboratorios especializados^{279,280,339}.

El enzimoimmunoensayo detecta anticuerpos circulantes mediante la formación de inmunocomplejos con anticuerpos específicos circulantes, que son reconocidos posteriormente por un anticuerpo antiinmunoglobulina humana. Es una de las técnicas más aceptadas por su accesibilidad, sencillez de manejo, bajo coste, automatización, objetividad, elevada sensibilidad, alta reproductibilidad y que ofrece la posibilidad de analizar un gran número de muestras al mismo tiempo, aunque muestra una cierta pérdida de sensibilidad con respecto a la inmunofluorescencia^{283,284,339}.

En el estudio que nos ocupa, la inmunofluorescencia constituyó, en términos globales, por sí sola la prueba diagnóstica con mayor número de casos positivos, seguida del enzimoimmunoensayo. Ambas pruebas de detección de antígenos (IF/EIA) han sido las más útiles y las que condujeron a un número mayor de diagnósticos. Así mismo, en los casos menores de 15 años, la inmunofluorescencia también fue la prueba que más positivos aportó seguida del enzimoimmunoensayo, sin embargo, en los casos mayores de 15 años, predominaba la reacción de fijación del complemento, no habiéndose detectado en esta población casos positivos con cultivo ni con enzimoimmunoensayo.

La reacción de fijación del complemento es un bioensayo serológico de alta sensibilidad y especificidad que permite detectar y cuantificar antígenos^{283,285,286,339}. Se considera positiva cuando supera un determinado título de anticuerpos detectados en suero o cuando puede ponerse de manifiesto una seroconversión tras 2 ó 3 semanas de evolución de los síntomas. Esto proporciona un diagnóstico retrospectivo útil únicamente en estudios epidemiológicos. En nuestro

trabajo ha demostrado ser una técnica de rendimiento exclusivo en adultos.

Aunque distintos estudios epidemiológicos muestran que en los pacientes con bronquiolitis aguda se encuentran con frecuencia alteraciones en la radiografía de tórax, no está claro si dichos hallazgos discriminan entre bronquiolitis aguda y otras infecciones respiratorias de vías bajas, o si predicen un curso evolutivo diferente o una mayor necesidad de cuidados médicos, además existe una relación riesgo beneficio desfavorable por la exposición a radiación ionizante no siendo recomendado su empleo de forma rutinaria en estos casos³³⁹.

En nuestro estudio se pudo comprobar como dentro de los métodos diagnósticos utilizados en la mayoría (75%) de los casos seleccionados se recurrió a esta prueba radiológica. En concordancia con lo afirmado en los distintos estudios, en la mayoría de los casos (49%) se constataron patrones compatibles con broncoespasmo, algo que ya se presumía por la clínica del paciente; en el 35% de los casos realizados la exploración radiológica no mostraba alteraciones patológicas, presentado un patrón de condensación del parénquima pulmonar compatible con neumonía en el 16% restante. Todo esto nos plantea la necesidad de realizar estudios apropiados que permitan evaluar la eficacia del uso protocolizado de la radiografía de tórax y el beneficio que esta exploración pueda revertir sobre los pacientes en determinadas ocasiones.

En la práctica, como afirman *Simó et al.*^{340,341}, existen controversias científicas en cuanto al manejo diagnóstico-terapéutico de la bronquiolitis aguda que genera una gran variabilidad en la manera de abordar esta entidad por los diferentes centros y profesionales sanitarios. Con frecuencia se utilizan de forma indiscriminada muchos tratamientos cuya eficacia no está demostrada (corticoides, salbutamol

oral, adrenalina subcutánea, bromuro de ipratropio, antibióticos, inmunoglobulinas, etc.). Salvo las medidas generales como la aspiración de secreciones, el mantenimiento de la nutrición e hidratación, asegurar la oxigenación y la desobstrucción nasal, ninguna otra intervención es aceptada de forma generalizada³⁴². Tratamientos ampliamente utilizados como los broncodilatadores inhalados (salbutamol y adrenalina nebulizada), sólo se recomiendan de forma tentativa, valorando individualmente la respuesta y tolerancia a los mismos. Cabe plantear la posible utilización de ciertos fármacos (heliox, surfactante y/o ribavirina) en casos graves bien seleccionados. El mayor avance en el desarrollo farmacológico de la bronquiolitis aguda en los últimos años se debe al campo de la prevención (desarrollo de anticuerpos monoclonales como inmunoprofilaxis)³⁴². Así mismo, se ha podido comprobar que incluso que las recomendaciones que mayor grado de evidencia tienen son escasamente seguidas en la práctica clínica^{333,343}.

En la segunda parte del estudio podemos observar como en la muestra seleccionada, en la mayoría de los casos se constata la instauración, a parte de las medidas descritas de oxigenoterapia o la aspiración de secreciones, de medidas terapéuticas que no son las más recomendadas por la evidencia científica, como el tratamiento con anticolinérgicos inhalados, el uso de corticoides tanto por vía inhalada como por vía sistémica en un porcentaje alto de pacientes, así como la utilización indiscriminada de antibióticos en estos pacientes sin una justificación clínica adecuada (neumonía bacteriana secundaria u otra sobreinfección) en la mayoría de los casos. Se constató la utilización en la mayoría de los casos de broncodilatadores inhalados, pero no se dejó una valoración de sus resultados sobre la repercusión clínica en cada caso utilizado.

El manejo de los casos de bronquiolitis aguda es uno de los ejemplos de la medicina actual en que la práctica diaria ("lo que hacemos") se

separa con más frecuencia de lo deseable de la evidencia científica (“lo que sabemos”). Todo esto es importante porque diferentes estilos en la práctica clínica habitual pueden conducir a variaciones no tan solo en el consumo de recursos sanitarios, sino también en los resultados clínicos obtenidos, en la calidad asistencial y en la equidad de acceso y utilización de los servicios.

Los profesionales sanitarios necesitamos actualizar permanentemente nuestros conocimientos en la práctica clínica diaria para que las decisiones clínicas tomadas en cada momento sean adecuadas, eficientes y seguras.

Teniendo en cuenta el elevado consumo de recursos sanitarios que causa anualmente la infección por VRS, que se traduce en un alto coste en términos directos para el sistema asistencial, esta actualización ha de permitir tanto una correcta selección de los casos que van a precisar ingreso hospitalario, bien por sus factores de riesgo bien por su gravedad clínica, como en la optimización de la utilización las pruebas diagnósticas necesarias en cada caso y el uso basado en la evidencia de medidas terapéuticas que hayan demostrado su utilidad en la práctica clínica, permitiendo ajustar los costes a las necesidades reales.

VII. CONCLUSIONES

El análisis de los casos de VRS diagnosticados en el Departamento de Microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid durante el periodo 1990-2000 nos permite concluir:

1. La distribución etaria de los casos de las infecciones por VRS diagnosticados en el HCU de Valladolid entre los años 1990 y 2000, refleja una clara tendencia a aparecer en las edades más tempranas de la vida, con especial incidencia en los pacientes de 6 meses o menos, descendiendo en edades posteriores tanto en número como en relevancia clínica y diagnóstica.
2. Se ha observado un predominio masculino en todos los grupos de edad analizados, salvo en los pacientes mayores de 55 años. La mayoría de las muestras pertenecían a pacientes ingresados en medio hospitalario.
3. Las tasas de incidencia anual de casos positivos para VRS variaron desde un 5.64 a un 22.3 casos/100.000 habitantes y año, con una media de 14.1 casos/100.000 habitantes y año. Destacando tres picos durante 1996, 1998 y 2000.
4. Todos los años la agrupación de casos se asoció a dos brotes, al principio y al final del año coincidiendo con los meses más fríos y húmedos. La clínica asociada a la infección VRS en su mayor parte correspondió a bronquitis y bronquiolitis.
5. El método diagnóstico que más positivos aportó fue la inmunofluorescencia, seguida del electroinmunoensayo en los menores de 15 años y la reacción de fijación de complemento en los mayores de dicha edad. La inmunofluorescencia constituyó

por si sola el método diagnóstico con mayor número de casos positivos.

6. La mayoría de los casos recogidos en el muestreo aleatorio presentaban como clínica a su ingreso mucosidad y dificultad respiratoria, seguido por el rechazo de tomas/vómitos y fiebre. En un 6.3% de los mismos la cardiopatía congénita estaba presente como antecedente personal.
7. En la clínica, principalmente respiratoria, destacó la presencia de sibilantes en la auscultación. En la gran mayoría de los casos revisados la exploración radiológica de tórax no presentaba alteraciones significativas. La estancia media de los pacientes ingresados fue de 7.37 días, presentando una estancia mayor de 10 días los casos asociados a gastroenteritis aguda -siendo ésto estadísticamente significativo- además fue la infección más frecuentemente asociada y la otitis media aguda la complicación más predominante.
8. De nuestro estudio se desprende que el manejo de los casos de bronquiolitis aguda es uno de los ejemplos de la medicina actual en la que la práctica diaria parece distanciarse con más frecuencia de lo deseable de la evidencia científica.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Robert C, Welliver MD. Respiratory syncytial virus and other respiratory viruses. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;22:S6-12.
- 2.-Brandt CD, Kim HW, Arrobio JO, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington DC. III. Composite analysis of eleven consecutive yearly epidemics. *Am J Epidemiol.* 1973;98:355-364.
- 3.-Chanock RM, Parrot RH. Acute respiratory disease in infancy and childhood: Present understanding and prospects for prevention. *Pediatrics.* 1965;36:21-39.
- 4.-Glezen WP, Denny FW. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *N Eng J Med.* 1973;288:498-505.
- 5.-Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington DC. I. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection. *Am J Epidemiol.* 1973;98:216-225.
- 6.-Parrot RH, Kim HW, Arrobio JO, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, DC. II. Infection and disease with respect to age, immunologic status, race and sex. *Am J Epidemiol.* 1973;98:289-300.
- 7.-Anderson LJ, Heilman CA. Protective and disease-enhancing immune responses to respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1995;171:1-7.
- 8.-Flemming DM, Cross KW. 1993 Respiratory syncytial virus or influenza?. *Lancet* 342:1507-1510.
- 9.-Heilman CA. Respiratory syncytial and parainfluenza viruses. *J Infect Dis.* 1990;161:402-406.
- 10.-Meqdam MM, Nasrallah GK. Enhanced detection of respiratory syncytial virus by shell vial in children hospitalised with respiratory illness in northern Jordan. *J Med Virol.* 2000;62:518-523.
- 11.-Aguinaga I, Arendo A, Bellido J, Guillén F, Suárez MM, Grupo Español de estudio ISAAC. Prevalencia de síntomas relacionados con

- el asma en niños de 13-14 años de 9 poblaciones españolas. *Med Clin* 1999;112:171-175.
- 12.- Chanock R, Roizman B, Myers R. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). Isolation, properties and characterization. *Am J Hyg.* 1957;66:281-290.
 - 13.- Morris JA, Blount RE, Savage RE. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1956;92:544-549.
 - 14.- Chanock RM, Fingerg L. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). II. Epidemiologic aspects of infection in infants and young children. *Am J Hyg.* 1957;66:291-300.
 - 15.- Adams JM, Imagawa DT, Zike K. Epidemic bronchiolitis and pneumonitis related to respiratory syncytial virus. *JAMA.* 1961;176:1037-1039.
 - 16.- Beem M, Wright FH, Hamre D, et al. Association of the chimpanzee coryza agent with acute respiratory disease in children. *N Eng J Med.* 1960;263:523-530.
 - 17.- Chanock RM, Kim HW, Vargosko AJ, et al. Respiratory syncytial virus. I. Virus recovery and other observations during 1960 outbreak of bronchiolitis pneumonia, and minor respiratory diseases in children. *JAMA.* 1961;176:647-653.
 - 18.- Hamre D, Procknow JJ. Viruses isolated from natural common colds in the USA. *BMJ.* 1961;2:1382-1385.
 - 19.- Kapikiam AZ, Bell JA, Mastrotta FM, et al. An outbreak of febrile illness and pneumonia associated with respiratory syncytial virus infection. *Am J Hyg.* 1961;74:234-248.
 - 20.- McClelland L, Hilleman MR, Hamparian VV, et al. Studies of acute respiratory illnesses caused by respiratory syncytial virus. *N Engl J Med.* 1961;264:1169-1175.

- 21.- Parrot RH, Vargosko AJ, Kim HW, et al. Respiratory syncytial virus. II. Serologic studies over a 34-month period of children with bronchiolitis, pneumonia, and minor respiratory diseases. JAMA. 1961;176:653-657.
- 22.- Reilly CM, Stokes J Jr, McClelland L, et al. Studies of acute respiratory illness caused by respiratory syncytial virus. 3. Clinical and laboratory findings. N Engl J Med. 1961;264:1176-1182.
- 23.- Gardner PS, Tuk DC, Aherne WA, et al. Deaths associated with respiratory tract infection in childhood. BMJ. 1967;4:316-320.
- 24.- Grist NR, Ross CAC, Stott EJ. Influenza, respiratory syncytial virus and pneumonia in Glasgow, 1962-1965. BMJ, 1967;1:456-457.
- 25.- Suto T, Yamo N, Ikeda M, et al. Respiratory syncytial virus infection and its serologic epidemiology. Am J Epidemiol. 1965;82:211-224.
- 26.- Collins PL, McIntosh K, Channock RM. Respiratory syncytial viruses. In: Fields BN, McIntosh K, Channock RM, eds. Fields Virology. 3rd ed. v. I. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1995:1313-1351.
- 27.- Glezen WP, Couch RB. Influenza viruses. In: Evans AS, ed. Viral infections of humans: epidemiology and control. 3rd ed. New York: Plenum, 1991:424.
- 28.- Arslanagic E, Matsumoto M, Suzuki K, et al. Maturation of respiratory syncytial virus within HEP-2 cell cytoplasm. Acta Virol. 1996;40:209-214.
- 29.- Walsh E, Hall C: Approaches to a vaccine for respiratory syncytial virus. In: Meyers RA, ed. Encyclopaedia of Molecular Biology and Molecular Medicine. Weinheim. Germany: VCH; 1996:286-296.
- 30.- Heminway BR, Yu W, Tanaka Y, et al. Analysis of respiratory syncytial virus F, G, and SH proteins in cell fusion. Virology. 1994;200:801-805.
- 31.- Hambling MH. Survival of respiratory syncytial virus during storage under various conditions. Br J Exp Pathol. 1964;45:647-655.
- 32.- Berthiaume L, Joncas J, Pavilanis V. Comparative structure, morphogenesis, and biological characteristics of the respiratory

- syncytial (RS) virus and the pneumonia virus of mice (PVM). Arch Gesamte Virusforsch. 1974;45:39-51.
- 33.-Hall CB, Geiman JM, Douglas RG Jr. Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. J Infect Dis. 1980;141:98-102.
- 34.-Reschteiner J, Winkler KC. Inactivation of respiratory syncytial virus in aerosol. J Gen Virol. 1969;5:405-410.
- 35.-Walsh EE, Hall CB. Respiratory syncytial virus. In: Schmidt NJ, Emmons RW, eds. Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections. New York: American Public Health Association, 1989:693-712.
- 36.-Shahrabadi MS, Lee PWK. Calcium requirement for syncytium formation in Hep2 cells by respiratory syncytial virus. J Clin Microbiol. 1988;26:139-141.
- 37.-Hall CB, Douglas RG Jr. Clinically useful method for the isolation of respiratory syncytial virus. J Infect Dis. 1975;131:1-5.
- 38.-Routledge EG, Wilcocks MM, Morgan L, et al. Expression of the respiratory syncytial virus 22K protein on the surface of infected HeLa cells. J Gen Virol. 1987;68:1217-1222.
- 39.-Senterfit LB. Persistent infection of RSV. In: RSV Workshop, July 20-21. 1997. Washington, DC: National Institutes of Health.
- 40.-Hendry RM, Talis AL, Godfrey E, et al. Concurrent circulation of antigenically distinct strains of respiratory syncytial virus during community outbreaks. J Infect Dis. 1986;153:291-297.
- 41.-Norrby E, Mufson MA, Hooshmand S. Structural Differences Between subtype A and B strains of respiratory syncytial virus. J Gen Virol. 1986;67:2721-2729.
- 42.-Maric-Galinovic G, Vojnovic G, Cepin-Bogovic J et al. Does the viral subtype influence the biennial cycle of respiratory syncytial virus?. Virol J. 2009;7:133.
- 43.-Walsh EE, Brandriss MW, Schlesinger JJ. Immunological differences between the envelope glycoproteins of two strains of human respiratory syncytial virus. J Gen Virol. 1987;68:2169-2176.

- 44.- Hall CB, Walsh EE, Schnabel KC, et al. Occurrence of groups A and B of respiratory syncytial virus over 15 years: Associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children. *J Infect Dis.* 1990;162:1283-1290.
- 45.- Anderson LJ, Hendry RM, Prierik LT, et al. Multicenter study of strains of respiratory syncytial virus. *J Infect Dis.* 1991;163:687-692.
- 46.- Mufson MA, Akerlind-Stopner B, Örvell C, et al. A single-season epidemic with respiratory syncytial virus subgroup B2 during 10 epidemic years, 1978 to 1988. *J Clin Microbiol.* 1991;29:162-165.
- 47.- Bradenburg AH, van Beek R, Moll HA, et al. G protein variation in respiratory syncytial virus group A does not correlate with clinical severity. *J Clin Microbiol.* 2000;61:3849-3852.
- 48.- Mufson MA, Belshe RB, Orvell C, Norrby E. Respiratory syncytial virus epidemics: Variable dominance of subgroups A and B strains among children, 1981-1986. *J Infect Dis.* 1988;157:143-148.
- 49.- Cane PA, Pringle CR. Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus. *Semis Virol.* 1995;6:371-378.
- 50.- Cane PA, Pringle CR. Analysis of linear epitopes recognized by the primary human antibody response to a variable region of the attachment (G) protein of respiratory syncytial virus. *J Med Virol.* 1997;51:297-301.
- 51.- Hussey GD, Apolles P, Arendse Z, et al. Respiratory syncytial virus infection in children hospitalised with acute lower respiratory tract infection. *S Afr Med J.* 2000;90:509-512.
- 52.- Madhi SA, Venter M, Madhi A, et al. Differing manifestations of respiratory syncytial virus-associated severe lower respiratory tract infections in human immunodeficiency virus type 1-infected and uninfected children. *Pediatr Infect Dis J.* 2001;20:164-170.
- 53.- Stensballe LG, Devasundaram JK, Simoes E. Respiratory syncytial virus epidemics: the ups and downs of a seasonal virus. *Pediatr Infect Dis J.* 2003 Feb;22(2Suppl).S21-32.

- 54.-Byrd LG, Pince GA. Animal models of respiratory syncytial virus infection. *Clin Infect Dis J.* 1997;25:1363-1368.
- 55.-Piazza RM, Johnson SA, Darnell MER, et al. Bovine respiratory syncytial virus protects cotton rats against human respiratory syncytial virus infection. *J Virol.* 1993;67:1503-1510.
- 56.-Kinman TG, Westenbrink F. Immunity to human and bovine respiratory syncytial virus (Review). *Arch Virol.* 1990;112:1-25.
- 57.-Amann VL, Lerch RS, Anderson K, et al. Bovine respiratory syncytial virus nucleocapsid protein: mRNA sequence analysing and expression from recombinant vaccinia virus vectors. *J Gen Virol.* 1992;73:999-1003.
- 58.-Baker JC, Wilson EG, McKay GL, et al. Identification of subgroups of bovine respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol.* 1992;30:1120-1126.
- 59.-Alansari H, Potgeiter LN. Nucleotide sequence analysis of the bovine respiratory syncytial virus G glycoprotein gene. *Virology.* 1993;196:873-877.
- 60.-Bastein N, Simard C, Trudel M. Partial nucleotide sequence of the genes encoding the fusion and attachment glycoproteins from a caprine respiratory syncytial virus isolate. In: *Abstracts of the IX International Congress of Virology* 1993;171:P12-27.
- 61.-Collins PL, Purcell RH, London WT. Evaluation in chimpanzee of vaccinia virus recombinants that express the surface glycoproteins of human respiratory syncytial virus. *Vaccine.* 1990;8:164-168.
- 62.-Kakuk TJ, Soike K, Brindeau RJ, et al. A human respiratory syncytial virus (RSV) primate model of enhanced pulmonary pathology induced with a formalininactivated RSV vaccine but not a recombinant FG subunit vaccine. *J Infect Dis.* 1993;167:533-561.
- 63.-Wagner MH, Evermann JF, Gaskin J, et al. Subacute effects of respiratory syncytial virus infection on lung function in lambs. *Pediatr Pulmonol.* 1991;11:56-64.

- 64.- Sharma R, Woldehiwet Z. Pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus in experimentally infected lambs. *Vet Microbiol.* 1990;23:267-272.
- 65.- Lapin CD, Hiatt PW, Langston C, et al. A lamb model for human respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Pulmonol.* 1993;15:151-156.
- 66.- Mejías A, Chávez-Bueno S, Jafri HS et al. Respiratory syncytial virus infection: old challenges and new opportunities. *Ped Infect Dis J* 2005;24:189-197.
- 67.- Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis.* 1991;13:S454-462.
- 68.- McIntosh K. Pathogenesis of severe acute respiratory infections in the developing world: Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *Rev Infect Dis.* 1991;13(Suppl):S492-500.
- 69.- Figueras J, Quero J y Comité de Estándares de la Sociedad Española de Neonatología. Recomendaciones para la prevención de la infección por virus respiratorio sincitial. *An Pediatr (Barc).* 2005;63:357-362.
- 70.- Du Prel JB, Puppe W, Gröndahl B et al. Are meteorological parameters associated with acute respiratory tract infections?. *Clin Infect Dis.* 2009;15;49:861-868.
- 71.- Stensballe L, Devasundaram JK, Simoes EAF. Respiratory syncytial virus epidemics: the ups and downs of a seasonal virus. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;22:S21-32.
- 72.- Shay DK, Holman RC, Newman RD, et al. Bronchitis associated hospitalizations among US children, 1980-1996. *JAMA.* 1999;282:1440-1446.
- 73.- Lowther SA, Shay DK, Holman RC, et al. Bronchitis associated hospitalizations among American Indian and Alaskan native children. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:11-17.
- 74.- Arnold SR, Wang EE, Law BJ, et al. Variable morbidity of respiratory syncytial virus infection in patients with underlying lung disease: a

- review of the PICNIC RSV database: Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada. *Pediatr Infect Dis J*. 1999;18:866-869.
- 75.- Reyes M, Eriksson M, Bennet R, et al. Regular pattern of respiratory syncytial viurs and rotavirus infections and relation to weather in Stockholm, 1984-1993. *Clin Microbiol Infect*. 1997;3:640-646.
- 76.- Constantopoulos AG, Cafetzis DA, Syrogiannopoulos GA, et al. Burden of respiratory syncytial viral infections on paediatric hospitals: a two-year prospective epidemiological study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;21:102-107.
- 77.- Kaneko M, Watanabe J, Kuwahara M, et al. Impact of respiratory syncytial virus infection as a cause of lower respiratory tract infection in children younger than 3 years of age in Japan. *J Infect*. 2002;44:240-243.
- 78.- Simoes EA. RSV disease in the pediatric population; epidemiology, seasonal variability, and long-term outcomes. *Manag Care*. 2008;17(11 Suppl 12):3-6.
- 79.- Centers for Disease Control. Update: Respiratory Syncytial Virus Activity-United States, 1997-98 Season. *MMWR*. 1997;46:1163-1165.
- 80.- Mlinaric-Calinovic G, Vilibic-Cavlek T, Ljubin-Sternak S et al. Eleven consecutive years of respiratory syncytial virus outbreaks in Croatia. *Pediatr Int*. 2009;51:237-240.
- 81.- Halstead DC, Jenkins SG. Continous non-seasonal epidemic of respiratory syncytial virus infection in the southeast United States. *South Med J* 1998;91:433-436.
- 82.- United Kingdom National Health Service: Communicable Disease Surveillance Centre. Public Health Laboratory Service. Seasonal diseases-winter infections: respiratory syncytial virus. Final reports: 1999/2000; 2000/2001; 2001/2002. http://www.phls.co.uk/topics_az/seasonal/menu.htm.

- 83.-The Netherlands Institute of Public Health and the Environment. Rijksinstituut Voor Volksgezondheid en Milieu. Infect Dis <http://arch.rivm.nl/publichealth/vaccines.html>.
- 84.-Ducoffre G, Cauchi P, Hendrickx E. Respiratory syncytial virus epidemiology in Belgium in 1998, 1999 and 2000 (Poster). J Perinat Med. 2001;29(Suppl I Part 2):352.
- 85.-Weigl JA, Puppe W, Schmitt HJ. Seasonality of respiratory syncytial virus-positive hospitalizations in children in Kiel, Germany, over a 7-year period. Infection 2002;30:186-192.
- 86.-Fransen H, Heigl Z, Wolontis S, et al. Infections with viruses in patients hospitalized with acute respiratory illness, Stockholm 1963-1967. Scand J Infect Dis 1969;1:127-136.
- 87.-Subi K. Mixed respiratory viral infections in Estonia. A long-term laboratory study. Acta Virol 1998;42:413-415.
- 88.-Waris M. Pattern of respiratory syncytial virus epidemics in Finland: two-year cycles with alternating prevalence of groups A and B. J Infect Dis 1991;163:464-469.
- 89.-Yurlova TI, Gvozdilova DA, Zvereva EP, et al. Some regularities in variations of respiratory syncytial virus strains during their epidemiological circulation. Acta Virol 1983;27:251-256.
- 90.-O'Kelly EA, Hillary IB. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection among infants over three winter seasons. Ir J Med Sci 1991;160:12-16.
- 91.-Winter GF, Hallam NF, Hargreaves FD, et al. Respiratory viruses in a hospitalized paediatric population in Edinburgh 1985-1994. J Infect 1996;33:207-211.
- 92.-Wickman M, Farahmand BY, Persson PG, et al. Hospitalization for lower respiratory disease during 20 yrs among under 5 yr children in Stockholm County: a population based survey. Eur Respir J 1998;11:366-370.
- 93.-Berner R, Schwoerer F, Schumacher RF, et al. Community and nosocomially acquired respiratory syncytial virus infection in a

- German paediatric hospital from 1988 to 1999. *Eur J Paediatr* 2001;160:541-547.
- 94.- Resch B, Gusenleitner W, Mandl C, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Southern Austria. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:587-588.
- 95.- Larni M, Giovannini M, Giuffre L, et al. Prevalence of respiratory syncytial virus infection in Italian infants hospitalized for acute lower respiratory tract infections, and association between respiratory syncytial virus infection risk factors and disease severity. *Pediatr Pulmonol* 2002;33:458-465.
- 96.- Téllez A, Pérez-Breña P, Fernández-Patino MV, et al. Acute respiratory disease in Spain: seven years of experience. *Rev Infect Dis* 1990;12:745-753.
- 97.- Degan R, Landau D, Haikin H, et al. Hospitalization of Jewish and Bedouin infants in southern Israel for bronchiolitis caused by respiratory syncytial virus. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12:381-386.
- 98.- Alvaro G, Zuccotti GV. Epidemiological aspects of respiratory syncytial virus (RSV) infections in Italy: a national survey. *J Int Med Res* 2000;28:207-213.
- 99.- Ausina V, Coll P, Sambeat M, et al. Prospective study on the etiology of community-acquired pneumonia in children and adults in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;7:342-347.
- 100.- Mlinaric-Galinovic G, Ugrcic I, Bozиков J. Respiratory syncytial virus infections in SR Croatia, Yugoslavia. *Pediatr Pulmonol* 1987;3:304-308.
- 101.- Loscetales MP, Roca A, Ventura PJ, et al. Epidemiology and clinical presentation of respiratory syncytial virus infection in a rural area of southern Mozambique. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:148-155.
- 102.- Hazlett DT, Bell TM, Tukei PM, et al. Viral etiology and epidemiology of acute respiratory infections in children in Nairobi, Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 1988;39:632-640.

- 103.- Johnson AW, Aderole WI, Osinusi K, et al. Acute bronchiolitis in tropical Africa: a hospital-based perspective in Ibadan, Nigeria. *Pediatr Pulmonol* 1996;22:236-247.
- 104.- Mulholland EK, Ogunlesi OO, Adegbola RA, et al. Etiology of serious infections in young Gambian infants. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18(10 Suppl):S35-41.
- 105.- Hussey GD, Apolles P, Arendse Z, et al. Respiratory syncytial virus infection in children hospitalised with acute lower respiratory tract infection. *S Afr Med J* 2000;90:509-512.
- 106.- Sobeslavsky O, Sebikari SR, Harlan PS, et al. The viral etiology of acute respiratory infections in children in Uganda. *Bull World Health Organ* 1977;55:625-631.
- 107.- Chew FT, Doraisingham S, Ling AE, et al. Seasonal trends of viral respiratory tract infections in the tropics. *Epidemiol Infect* 1998;121:121-128.
- 108.- Hierholzer JC, Tannock GA, Hierholzer CM, et al. Subgrouping of respiratory syncytial virus strains from Australia and Papua New Guinea by biological and antigenic characteristics. *Arch Virol* 1994;136:133-147.
- 109.- Sung RY, Murray HG, Chan RC, et al. Seasonal patterns of respiratory syncytial virus infection in Hong Kong: a preliminary report. *J Infect Dis* 1987;156:527-528.
- 110.- Ruutu P, Halonen P, Meurman O, et al. Viral lower respiratory tract infections in Filipino children. *J Infect Dis* 1990;161:175-179.
- 111.- John TJ, Cherian T, Steinhoff MC, et al. Etiology of acute respiratory infections in children in tropical southern India. *Rev Infect Dis* 1991;13(Supple 6):S463-469.
- 112.- Steinhoff MC, Padmini B, John J, et al. Viral etiology of acute respiratory infections in south Indian children. *Indian J Med Res* 1985;81:349-353.
- 113.- Maitreyi RS, Broor S, Kabra SK, et al. Rapid detection of respiratory syncytial virus by centrifugation enhanced cultures from

- children with acute lower respiratory tract infections. *J Clin Virol* 2000;16:41-47.
- 114.- Ghafoor A, Nomani NK, Ishaq Z, et al. Diagnoses of acute lower respiratory tract infections in children in Rawalpindi and Islamabad, Pakistan. *Rev Infect Dis* 1990;12(Suppl 8):S907-917.
- 115.- Law BJ, Carbonell-Estrany X, Simoes EA. An update on respiratory syncytial virus epidemiology: A developed country perspective. *Respir Med* 2002;96(Suppl B):S1-7.
- 116.- Simoe EA, Carbonell-Estrany X. Impact of severe disease caused by respiratory syncytial virus in children living in developed countries. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S13-20.
- 117.- Lukic-Grlic A, Bace A, Lokar-Kolbas R, et al. Clinical and epidemiological aspects of respiratory syncytial virus lower respiratory tract infections. *Eur J Epidemiol* 1999;15:361-365.
- 118.- Peret TC, Hall CB, Hammond GW, et al. Circulation patterns of group A and B human respiratory syncytial virus genotypes in 5 communities in North America. *J Infect Dis* 2000;181:1891-1896.
- 119.- Venter M, Collinson M, Schoub BD. Molecular epidemiological analysis of community circulating respiratory syncytial virus in rural South Africa: comparison of viruses and genotypes responsible for different disease manifestations. *J Med Virol* 2002;68:452-461.
- 120.- Bulkow LR, Singleton RJ, Karron RA, et al. Risk factors for severe respiratory syncytial virus infection among Alaska native children. *Pediatrics* 2002;109:210-216.
- 121.- Stensballe LG, Devasundaram JK, Simoes EAF. Respiratory syncytial virus epidemics: the ups and downs of a seasonal virus. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S21-32.
- 122.- Hiatt PW, Grace S, Kozinetz CA, et al. The effects of viral respiratory tract infection on lung function in infants with cystic fibrosis. *Pediatrics* 1999;103:619-626.

- 123.- López A, Casado J, Martín MA et al. Bronquiolitis grave. Epidemiología y evolución de 284 pacientes. *An Pediatr (Barc)* 2007;67:116-122.
- 124.- Hann LL, Alexander JP, Anderson LJ. Respiratory syncytial virus among the elderly: an assessment of disease burden. *J Infect Dis* 1999;179:25-30.
- 125.- Carbonell X, Quero J y Comité de Estándares de la SEN. Recomendaciones para la prevención de la infección por virus respiratorio sincitial. *An Esp Pediatr* 2000;52:372-374.
- 126.- González D, González E. Bronquiolitis aguda: bases para un protocolo racional. *An Esp Pediatr* 2001;55:355-364.
- 127.- Shay DK, Holman RC, Newman RD, et al. Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1996. *JAMA* 1999;282:1440-1446.
- 128.- Weber A, Weber M, Milligan P. Modeling epidemics caused by respiratory syncytial virus (RSV). *Math Biosci* 2001;172:95-113.
- 129.- Dowell SF, Anderson LJ, Gary HE, et al. RSV is an important cause of community acquired lower respiratory infection among hospitalized adults. *J Infect Dis* 1996;174:456-452.
- 130.- Hall CB, Long CE, Schnabel KC. Respiratory syncytial virus infections in previously healthy working adults. *Clin Infect Dis* 2001;33:792-796.
- 131.- Weisman LE. Populations at risk for developing respiratory syncytial virus and risk factors for respiratory syncytial virus severity: infants with predisposing conditions. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S33-39.
- 132.- Meissner HC. Selected populations at increase risk from respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2002;22:S40-45.
- 133.- Fabbiani M, Terrosi C, Martorelli B et al. Epidemiological and clinical study of viral respiratory tract infections in children from Italy. *J Med Virol.* 2009;81:750-756.

- 134.- Black-Payne C. Bronchiolitis. En: Hilman BC, ed. Pediatric respiratory disease: diagnostic and treatment. Philadelphia: WB Saunders, 1993;205-218.
- 135.- Subcommittee on diagnosis and management of bronchiolitis. Diagnosis and management of bronchiolitis. Pediatrics 2006;118:1774-1793.
- 136.- Aujard Y, Fauroux B. Risk factors for severe respiratory syncytial virus infection in infants. Respir Med 2002;96:S9-14.
- 137.- Bont L, Kimpen JL. Immunological mechanism of severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. Intensive Care Med 2002;28:616-621.
- 138.- Hodson WA. Normal and abnormal development of the lung. In: Polin A, Fox WW, eds. Fetal and neonatal physiology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders, 1998.
- 139.- Simon A, Ammann RA, Wilkesmann A et al. Respiratory syncytial virus infection in 406 hospitalized premature infants: results from a prospective German multicentre database. Eur J Pediatr 2007;166:1273-1283.
- 140.- Fanaroff AA, Wright LL, Stevenson DK, et al. Very-low-birth-weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, May 1991 through December 1992. Am J Obst Gynecol 1995;173:1423-1431.
- 141.- Boyce TG, Mellen BG, Mitchel EF, et al. Rates of hospitalization for respiratory syncytial virus infection among children in Medicaid. J Pediatr 2000;137:865-870.
- 142.- Carbonell X, Quero J, Bustos G, et al. Rehospitalization because of respiratory syncytial virus infection in premature infants younger than 33 weeks of gestation: a prospective study. IRIS Study Group. Pediatr Infect Dis J 2000;19:592-527.
- 143.- Carbonell X, Quero J for the IRIS Study Group. Hospitalization rates for respiratory syncytial virus infection in premature infants

- born during two consecutive seasons. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:874-879.
- 144.- Langley JM, LeBlanc JC, Wang EE, et al. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in Canadian pediatric hospitals: a pediatric investigators collaborative network on infections in Canada study. *Pediatrics* 1997;100:943-945.
- 145.- Langley JM, Wang EE, Law BJ, et al. Economic evaluation of respiratory syncytial virus infection in Canadian children: a pediatric investigators collaborative network on infections in Canada (PICNIC) study. *J Pediatr* 1997;131:113-117.
- 146.- García ML, Ordobás M, Calvo C, et al. Infecciones virales de vías respiratorias inferiores en lactantes hospitalizados: etiología, características clínicas y factores de riesgo. *An Esp Pediatr* 2001;55:101-107.
- 147.- Colinas J, Rodríguez C, Gómez P, et al. Bronquiolitis. Revisión de 153 casos y estudio comparativo del tratamiento con ribavirina. *An Esp Pediatr* 1997;46:143-147.
- 148.- Institute of Medicine on Sigues and Priorities for New Vaccine Development Prospects for immunising against respiratory syncytial virus. In: *New Vaccine Development Establishing Priorities*. Washington: National Academy of Sciences Press 1988. p. 397-409.
- 149.- García MJ, Calvo C, Martín F, et al. Infecciones respiratorias por metaneumovirus en lactantes hospitalizados. *An Pediatr (Barc)* 2004;61:213-218.
- 150.- Jartti T, Van den Hoogen BG, Garofalo RP, et al. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet* 2002;360:1393-1394.
- 151.- Boivin G, Abed Y, Pelletier G, et al. Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: A new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. *J Infect Dis* 2002;186:1330-1334.

- 152.- Greensill J, McNamara PS, Dove W, et al. Human metapneumovirus in severe syncytial virus bronchiolitis. *Emerg Infect Dis* 2003;9:372-375.
- 153.- Vargas SO, Kozakewich HPW, Pérez-Atayde AR, et al. Pathology of human metapneumovirus infection: insights into the pathogenesis of a newly identified respiratory virus. *Pediatr Dev Pathol* 2004;7:478-486.
- 154.- Freymouth F, Vabret A, Legrand L, et al. Presence of the new human metapneumovirus in French children with bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:92-94.
- 155.- Boivin G, De Serres G, Cote S, et al. Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerg Infect Dis* 2003;9:634-640.
- 156.- Van den Hoogen BG, Osterhaus DM, Fouchier RA. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23(1 Suppl):S25-32.
- 157.- Falsey AR, Erdman D, Anderson JL, et al. Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis* 2003;187:785-790.
- 158.- Esper F BD, Weibel G, Martinello RA, et al. Human metapneumovirus infection in the United States: Clinical manifestations associated with a newly emerging respiratory infection in children. *Pediatrics* 2003;187:1407-1410.
- 159.- Van den Hoogen BG, Van Doormun GJ, Fockens JC, et al. Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients. *J Infect Dis* 2003;188:1571-1577.
- 160.- Maggi F, Pifferi M, Vatteroni M, Fornai C, et al. Human metapneumovirus associated with respiratory tract infections in a 3-year study of nasal swabs from infants in Italy. *J Clin Microbiol* 2003;41:2987-2991.
- 161.- Lazar I, Weibel C, Dziuraa J, et al. Human metapneumovirus and severity of respiratory syncytial virus disease. *Emerg Infetct Dis* 2004;10:1318-1320.

- 162.- Ulloa-Gutiérrez R. Human metapneumovirus: a new agent in the differential diagnosis of respiratory tract infection. *An Pediatr (Barc)* 2003;59:1-2.
- 163.- McBride JT. Pulmonary function changes in children after respiratory syncytial virus infection in infancy. *J Pediatr* 1999;135:28-32.
- 164.- Aherne W, Bird T, Court SDM, et al. Pathological changes in virus infections of lower respiratory tract infection in children. *J Clin Pathol* 1970;23:7-18.
- 165.- Wohl MEB. Present capacity to evaluate pulmonary function relevant to broncholitis. *Pediatr Res* 1977;11:252-253.
- 166.- Martín MA. Infección por el virus respiratorio sincitial y asma. *Allergol et Immunopathol* 2001;29:126-151.
- 167.- Neilson KA, Yunis EJ. Demonstration of respiratory syncytial virus in an autopsy series. *Pediatr Pathol* 1990;10:491-502.
- 168.- Reid L. Influence of the pattern of structural growth of lung on susceptibility to specific infectious disease in infants and children. *Pediatr Res* 1977;11:210-215.
- 169.- Fulginiti VA, Eller JJ, Sieber OF, et al. Respiratory virus immunization. I. A field trial of two inactivated respiratory virus vaccines: an aqueous trivalent parainfluenzae virus vaccine, and an alum-precipitated respiratory syncytial vaccine. *Am J Epidemiol* 1969;89:435-448.
- 170.- Brandenburg AH, Kleinjan A, Van Het Land B. Type 1-like immune response is found in children with respiratory syncytial virus infection regardless of clinical severity. *J Med Virol* 2000;62:267-277.
- 171.- Ogilvie MM, Vathemen AS, Radford M, et al. Maternal antibody and respiratory syncytial virus in infancy. *J Med Virol* 1981;7:263-271.
- 172.- Openshaw PJ, Dean GS, Culley FJ. Links between respiratory syncytial virus bronchiolitis and childhood asthma: clinical and research approaches. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S58-65.

- 173.- Polack FP, Teng MN, Collins PL, et al. A role for immune complexes in enhanced respiratory syncytial virus disease. *J Exp Med* 2002;196:859-853.
- 174.- Fernald GW, Almond JR, Henderson FW. Cellular and humoral immunity in recurrent respiratory syncytial virus infections. *Pediatr Res* 1983;17:753-758.
- 175.- Glezen WP, Paredes A, Allison JE, et al. Risk of respiratory syncytial virus infection for infants from low-income families in relationship to age, sex, ethnic group and maternal antibody level. *J Pediatr* 1981;98:708-715.
- 176.- Graham BS, Buton LA, Rowland J, et al. Respiratory syncytial virus infection in anti-treated mice. *J Virol* 1991;65:4936-4942.
- 177.- Powers DC. Influenza A virus-specific cytotoxic T lymphocyte activity declines with advancing age. *J Am Geriatr Soc* 1993;41:1-5.
- 178.- Taylor G, Stott EJ, Bew M, et al. Monoclonal antibodies protect against respiratory syncytial virus infection in mice. *Immunology* 1984;52:137-142.
- 179.- Walsh EE, Hall CB, Briselli M, et al. Immunization with glycoprotein subunits of respiratory syncytial virus to protect cotton rats against viral infection. *J Infect Dis* 1987;155:1198-1203.
- 180.- Olmsted RA, Elango N, Prince GA, et al. Expression of the F glycoprotein of respiratory syncytial virus by a recombinant vaccinia virus: Comparison of the individual contributions of the F and G glycoproteins to host immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:7486-7466.
- 181.- The Prevent Study Group. Reduction of respiratory syncytial virus hospitalization among premature infants and infants with bronchopulmonary dysplasia using respiratory syncytial virus immune globulin prophylaxis. *Pediatrics* 1997;99:93-99.
- 182.- Muelenaer PM, Henderson FW, Hemming VG, et al. Group-specific serum antibody responses in children with primary and recurrent respiratory syncytial virus infections. *J Infect Dis* 1991;164:15-21.

- 183.- Prince GA, Horswood RL, Chanock RM. Quantitative aspects of passive immunity to respiratory syncytial virus infection in infants cotton rats. *J Virol* 1985;55:517-520.
- 184.- Kaul TN, Welliver RC, Wrong DT, et al. Secretory antibody response to respiratory syncytial virus infection. *Am J Dis Child* 1981;135:1013-1016.
- 185.- Mills JV, Van Kirk JE, Wright PF, et al. Experimental respiratory syncytial virus infection of adults. Possible mechanism of resistance infection and illness. *J Immunol* 1971:123-130.
- 186.- Welliver RC, Wong DT, Sun M, et al. The development of respiratory syncytial virus-specific IgE and the release of histamine in naso-pharyngeal secretions after infection. *N Engl J Med* 1981;305:841-846.
- 187.- Welliver RC, Sun M, Hildreth SW, et al. Respiratory syncytial virus-specific antibody responses in immunoglobulin A and E isotypes to the F and G proteins and to intact virus after natural infection. *J Clin Microbiol* 1989;27:295-299.
- 188.- Welliver RC, Kaul TJ, Sun M, et al. Defective regulation of immune responses in respiratory syncytial virus infection. *J Immunol* 1984;133:1925-1930.
- 189.- Volovitz B, Welliver RC, de Castro G, et al. The release of leukotrienes in the respiratory tract during infection with respiratory syncytial virus: Role in obstructive airway disease. *Pediatr Res* 1988;24;504-507.
- 190.- Garofalo R, Kimpen JLL, Welliver RC, et al. Eosinophil degranulation in the respiratory tract during naturally acquired respiratory syncytial virus infection. *J Pediatr* 1992;120:28-32.
- 191.- Ogra PL, Patel J. Respiratory syncytial virus infection and the immunocompromised host. *Pediatr Infect Dis J* 1988;7:246-249.
- 192.- Graham BS, Buton LA, Wright PF, et al. Role of T lymphocyte subsets in the pathogenesis of primary infection and rechallenge with respiratory syncytial virus in mice. *J Clin Invest* 1991;88:1026-1033.

- 193.- Englund JA, Sullivan CJ, Jordan C, et al. Respiratory syncytial virus infection in immunocompromised adults. *Ann Intern Med* 1988;109:203-208.
- 194.- Martínez FD. Respiratory syncytial virus infection bronchiolitis and the pathogenesis of childhood asthma. *Pediatr Infect Dis* 2003;22:S76-82.
- 195.- Bangham CMR, Openshaw PJM, Bail LA, et al. Human and murine cytotoxic T cells specific to respiratory syncytial virus recognize the viral nucleoprotein (N), but not the major glycoprotein (G), expressed by vaccinia virus recombinants. *J Immunol* 1986;137:3973-3977.
- 196.- Isaacs D, MacDonald NE, Bangham CRM, et al. The specific cytotoxic T-cell response in adult volunteers to infection with respiratory syncytial virus. *Immunol Infect Dis* 1991;1:5-12.
- 197.- Chiba Y, Higashidato Y, Suga K, et al. Development of cell-mediated cytotoxic immunity to respiratory syncytial virus in human infants following naturally acquired infection. *J Med Virol* 1989;28:133-139.
- 198.- Openshaw PJM, Anderson K, Wertz GW, et al. The 22,000-kilodalton protein of respiratory syncytial virus is a major target for K^d-restricted cytotoxic T lymphocytes from mice primed by infection. *J Virol* 1990;64:1683-1689.
- 199.- Cherrie AH, Anderson K, Wertz GW, et al. Human cytotoxic T cells stimulated by antigen on dendritic cells recognize the N, SH, F, M, 22K, and 1b proteins of respiratory syncytial virus. *J Virol* 1992;66:2102-2110.
- 200.- Openshaw PJM, Pemberton RM, Ball LA, et al. Helper T cell recognition of respiratory syncytial virus in mice. *J Gen Virol* 1988;69:305-312.
- 201.- Anderson JJ, Harrop JA, Peers H, et al. Recognition of respiratory syncytial (RS) virus proteins by human and BALB/c CD 4+ lymphocytes. *J Med Virol* 1991;35:165-173.

- 202.- Graham BS, Henderson GS, Tang YW, et al. Priming immunization determines T helper cytokine mRNA expression patterns in lungs of mice challenged with respiratory syncytial virus. *J Immunol* 1993;151:2032-2040.
- 203.- Kimpen JLL. Respiratory syncytial and asthma: the role of monocytes. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:S1-3.
- 204.- Alwan WH, Record FM, Openshaw PJ. Phenotypic and functional characterization of T-cell lines specific for individual respiratory syncytial virus proteins. *J Immunol* 1993;1250:5211-5218.
- 205.- Kimpen JL, Garofalo R, Welliver RC, et al. An ultrastructural study of the interaction of human eosinophils with respiratory syncytial virus. *Pediatr Allergy Immunol* 1996;7:48-53.
- 206.- Patel JA, Kunimoto M, Sim TC, et al. Interleukin-1 mediates the enhanced expression of intercellular adhesion molecule-1 pulmonary epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;13:602-609.
- 207.- Midulla F, Villani A, Panuska JR, et al. Respiratory syncytial virus lung infection in infants: Immunoregulatory role of infected alveolar macrophages. *J Infect Dis* 1993;168:1515-1519.
- 208.- Noah TL, Henderson FW, Wortman IA, et al. Nasal cytokine production in viral acute upper respiratory infection of childhood. *J Infect Dis* 1995;171:584-592.
- 209.- Levine SJ. Bronchial epithelial cell-cytokine interactions in airway inflammation. *Ann Intern Med* 1995;123:288-304.
- 210.- Stark JM, Godding V, Sedgwick JB, et al. Respiratory syncytial virus infection enhances neutrophil and eosinophil adhesion to cultured respiratory epithelial cells. *J Immunol* 1996;156:4774-4782.
- 211.- Hussell T, Pennycook A, Openshaw PJM. Inhibition of tumour necrosis factor reduces the severity of virus-specific lung immunopathology. *Eur J Immunol* 2001;31:2566-2573.

- 212.- O'Donnell DR, Openshaw PJM. Anaphylactic sensitization to aeroantigen during respiratory virus infection in infants and children. *Clin Exp Allergy* 1998;28:1501-1520.
- 213.- Bont L, Heijnen CJ, Kavelaars A, et al. Monocyte IL-10 production during respiratory syncytial virus bronchiolitis is associated with recurrent wheezing in a one-year follow-up study. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1518-1523.
- 214.- Bont L, Kavelaars A, Heijnen CJ, et al. Monocyte interleukin-12 production is inversely related to duration of respiratory failure in respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis* 2000;181:1672-1675.
- 215.- Piippo-Savolainen E, Korppi M. Wheezy babies-wheezy adults? Review on long-term outcome until adulthood after early childhood wheezing. *Acta Paediatr* 2008;97:5-11
- 216.- Martínez FD. Development of wheezing disorders and asthma in preschool children. *Pediatrics* 2002;109:362-367.
- 217.- Pérez-Yarza E, Moreno A, Lázaro P et al. The association between respiratory syncytial virus infection and the development of childhood asthma: a systematic review of literature. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26:733-739.
- 218.- Pala P, Bjarnason R, Sigurbergsson F, et al. Enhanced IL-4 responses in children with a history of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy. *Eur Respir J* 2002;20:1-7.
- 219.- Piedimonte G. Contribution of neuroimmune mechanism to airway inflammation and remodelling during and after respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S66-75.
- 220.- Castro-Rodríguez JA. Association between asthma and viral infections. *An Paediatr (Barc)* 2007;67:161-168.
- 221.- Hu C, Wedde-Beer K, Auais A, et al. Nerve growth factor and nerve growth factor receptors in respiratory syncytial virus infected lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;28:L494-502.

- 222.- Taussig L, Wright A, Holberg C et al. Tucson Children's Respiratory Study: 1980 to present. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:661-675.
- 223.- Gern JE. The role of viral infections in the natural history of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;106:201-212.
- 224.- Martínez FD et al. Recognizing early asthma. *Allergy* 1999;54(Suppl. 49):584-593.
- 225.- Lorente F, Laffond E, Moreno E, et al. Infección vírica y asma: mecanismos inmunológicos. *Allergol et Immunopathol* 2001;29:126-151.
- 226.- Fleming DM, Pannell RS, Elliot AJ et al. Respiratory illness associated with influenza and respiratory syncytial virus infection. *Arch Dis Child* 2005;90:741-746.
- 227.- Bourgeois FT, Valim C, McAdam AJ et al. Relative impact of influenza and respiratory syncytial virus in young children. *Pediatrics* 2009;124:1072-1080.
- 228.- Sorce LR. Respiratory syncytial virus: from primary care to critical care. *J Pediatr Health Care* 2009;23:101-108.
- 229.- Friis B, Eiken M, Hornsleth A, et al. Chest x-ray appearances in pneumonia and bronchiolitis. *Acta Paediatr Scand* 1990;79:219-225.
- 230.- Davies HD, Wang EEL, Mason D, et al. Reliability of the chest radiograph in the diagnosis of lower respiratory illness in young children. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:600-604.
- 231.- Harsten G, Prellner K, Löfgren B, et al. Serum antibodies against respiratory tract viruses in episodes of acute otitis media. *J Laryngol Otol* 1991;105:337-340.
- 232.- McMillan JA, Tristram DA, Weider LB, et al. Prediction of the duration of hospitalization in patients with respiratory syncytial virus: Use of clinical parameters. *Pediatrics* 1988;81:22-26.
- 233.- Chonmaitree T, Owen MJ, Patel JA, et al. Effect of viral respiratory tract infection on outcome of acute otitis media. *J Pediatr* 1992;120:856-862.

- 234.- Andrade MA, Hoberman A, Glustein J, et al. Acute otitis media in patients with bronchiolitis. *Pediatrics* 1998;101:617-619.
- 235.- Arola J, Ruuskanen O, Ziegler T, et al. Clinical role of respiratory syncytial virus infection in acute otitis media. *Pediatrics* 1990;86:848-855.
- 236.- Patel J, Faden H, Sharma S, et al. Effect of respiratory syncytial virus on adherence, colonization and immunity of non-typable *Haemophilus influenzae*: implications for otitis media. *Int J Pediatr Otorrhinolayngol* 1992;23:15-23.
- 237.- Dowell SF, Anderson LJ, Gary HE Jr. Respiratory syncytial virus is an important cause of community-acquired respiratory infection among hospitalized adults. *J Infect Dis* 1996;174:456-462.
- 238.- Mlinaric-Galinovic G, Falsey AR, Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection in the elderly. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:777-781.
- 239.- Greenough A, Alexander J, Boit P et al. School age outcome of hospitalisation with respiratory syncytial virus infection of prematurely born infants. *Thorax* 2009;64:490-495.
- 240.- Gross PA, Rodstein M, LaMontagne JR, et al. Epidemiology of acute respiratory illness during an influenza outbreak in a nursing home: A prospective study. *Arch Intern Med* 1988;148:559-561.
- 241.- Mathur U, Bentley DW, Hall CB. Concurrent outbreaks of respiratory syncytial virus and influenza A/Texas/77 infection in the institutionalized elderly and chronically ill. *Am Intern Med* 1980;93:49-52.
- 242.- Falsey AR, Treanor JJ, Betts RG, et al. Respiratory syncytial virus and influenza A infection in the hospitalized elderly. *J Infect Dis* 1995;172:389-394.
- 243.- Checcia P. Identification and management of severe respiratory syncytial virus. *Am J Health Syst Pharm* 2008;1;65(23Suppl8)S7-12.

- 244.- García R, Raad I, Abi-Said D, et al. Nosocomial respiratory syncytial virus infections: Prevention and control in bone marrow transplant patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18:412-416.
- 245.- Isaacs D, Dickson H, O'Callaghan C, et al. Handwashing and cohorting in prevention of hospital acquired infections with respiratory syncytial virus. *Arch Dis Child* 1991;66:227-231.
- 246.- Madge P, Paton JY, McColl JH, et al. Prospective controlled study of four infection-control procedures to prevent Nosocomial infection with respiratory syncytial virus. *Lancet* 1992;340:1079-1083.
- 247.- Langley JM, LeBlanc JC, Wang EEL, et al. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in Canadian pediatric hospitals: A pediatric investigators collaborative network on infections in Canada study. *Pediatrics* 1997;100:943-946.
- 248.- Bont L. Nosocomial RSV infection control and outbreak management. *Pediatr Respir Rev* 2009;10Suppl1:16-17.
- 249.- Agius G, Dindinad G, Biggar RJ, et al. An epidemic of respiratory syncytial virus in elderly people: Clinical and serological findings. *J Med Virol* 1990;30:117-127.
- 250.- Ranna-Singh MA, Krilov LR, Ginocchio CC, et al. RT-PCR methodology to detect RSV in air samples from hospital rooms of patients with RSV infection. Abstracts of Infectious Diseases Society of America, 34th Annual Meeting, New Orleans, September 18-20, 1996;52:98A.
- 251.- Figueras J, López J, Medrano C et al. Consenso multidisciplinar español sobre la profilaxis de la infección respiratoria pediátrica por virus respiratorio sincitial. *An Pediatr (Barc)* 2008;69:63-71.
- 252.- Mahant S, Robinson JL, Wang EEL. Hospital morbidity in patients with RSV lower respiratory illness (LFI) and underlying heart disease: Analysis of PICNIC RSV database (Abstracted), Washington, DC: Academy of Pediatrics Society; May 1997;41:78A.

- 253.- Hordvik NL, König P, Hamory B, et al. Effects of acute viral respiratory tract infections in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmunol* 1989;7:217-222.
- 254.- Abman SH, Ogle JW, Butler-Simon N, et al. Role of respiratory syncytial virus in early hospitalizations for respiratory distress of young infants with cystic fibrosis. *J Pediatr* 1988;113:826-830.
- 255.- MacDonald NE, Wolfish N, McLaine P, et al. Role of respiratory viruses in exacerbations of primary nephritic syndrome. *J Pediatr* 1986;108:378-382.
- 256.- Cunningham CK, McMillan JA, Gross SJ. Rehospitalization for respiratory illness in infant of less than 32 weeks gestation. *Pediatrics* 1991;88:527-532.
- 257.- Groothuis JR, Salbenblatt CK, Lauer BA. Severe respiratory syncytial virus infection in older children. *Am J Dis Child* 1990;144:346-348.
- 258.- Tammela OK. First-year infections after initial hospitalization in low birth weight infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *Scand J Infect Dis* 1992;24:515-524.
- 259.- Nachman SA, Navaie-Waliser M, Qureshi MZ, et al. Rehospitalization with respiratory syncytial virus after neonatal intensive care unit discharge: A 3-year follow-up. *Pediatrics* 1997;100:E8.
- 260.- Miller RB, Chavers BM. Respiratory syncytial virus infections in pediatric and renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol* 1996;10:213-215.
- 261.- Chandwani S, Borkowsky W, Krasinski K, et al. Respiratory syncytial virus infection in human immunodeficiency virus-infected children. *J Pediatr* 1990;117:251-733.
- 262.- Bowden RA. Respiratory syncytial virus infections after marrow transplant: The Fred Hutchinson Cancer Research Center experience. *Am J Med* 1997;102:27-30.

- 263.- Englund JA, Piedra PA, Whimbey E. Prevention and treatment of respiratory syncytial virus and parainfluenza viruses in immunocompromised patients. *Am J Med* 1997;102:61-70.
- 264.- American Academy of Pediatrics. Section 4: Antimicrobial agents and related therapy. In: Pickering LK, ed. 2000 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 25th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics;2000:485.
- 265.- Church NR, Anas NG, Hall CB, et al. Respiratory syncytial virus related apnea in infants: Demographics and outcome. *Am J Dis Child* 1984;138:247-250.
- 266.- Williams AL, Uren EC, Bretherton L. Respiratory viruses and sudden infant death. *BMJ* 1984;288:1491-1493.
- 267.- Hall CB, Hall WJ, Gala CL, et al. A long term prospective study of children following respiratory syncytial virus infection. *J Pediatr* 1984;105:358-364.
- 268.- Sly PD, Hibbert ME. Childhood asthma following hospitalization with acute viral bronchiolitis in infancy. *Pediatr Pulmonol* 1989;7:153-158.
- 269.- Martinez FD, Stern DA, Wright AL, et al. Association of nonwheezing lower respiratory tract illnesses in early life with persistently diminished serum IgE levels. *Thorax* 1995;50:1067-1072.
- 270.- Martinez FD. Viral infections and the development of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1644-1647.
- 271.- Martinez FD, Wright AL, Taussing LM, et al. Asthma and wheezing in the first six years of life. *N Engl J Med* 1995;332:133-138.
- 272.- Piedimonte G. The association between respiratory syncytial virus infection and reactive airway disease. *Respiratory Medicind* 2002;96 Suppl B:25-29.
- 273.- Martínez FD. Respiratory syncytial virus bronchiolitis and the pathogenesis of childhood asthma. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;22:76-82.

- 274.- Mejías A, Chávez-Bueno S, Ríos AM, et al. Anti-respiratory syncytial virus (RSV) neutralizing antibody decrease lung inflammation, airway obstruction, and airway hyperresponsiveness in a murine RSV model. *Antimicrob Ag Chemother* 2004;48:1811-1822.
- 275.- Schwarze J, O'Donnell DR, Rohwedder A, et al. Latency and persistence of respiratory syncytial virus despite T cell immunity. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:801-805.
- 276.- Mejías A, Chávez-Bueno S, Ríos AM, et al. Asma y virus respiratorio sincitial. Nuevas oportunidades de intervención terapéutica. *An Pediatr (Barc)* 2004;61:252-260.
- 277.- Kellogg JA. Culture vs direct antigen assays for detection of microbial pathogens from lower respiratory tract specimens suspected of containing the respiratory syncytial virus. *Arch Pathol Lab Med* 1991;115:451-458.
- 278.- Falsey AR, McCann RM, Hall WJ, et al. Evaluation of four methods for the diagnosis of respiratory syncytial virus infection in older adults. *J Am Geriatr Soc* 1996;44:71-73.
- 279.- Engler HD, Preuss J. Laboratory diagnosis of respiratory syncytial virus infection in 24 hours of utilizing shell vial cultures. *J Clin Microbiol* 1997;35:2165-2167.
- 280.- Freymuth F, Vabret A, Galateau-Salle F, et al. Detection of respiratory syncytial virus, parainfluenza virus 3, adenovirus and rhinovirus sequences in respiratory tract of infants by polymerase chain reaction and hybridization. *Clin Diag Virol* 1997;8:31-40.
- 281.- Jesen IP, Thisted E, Glikmann G, et al. Secretory IgM and IgA antibodies to respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates: A diagnostic supplement to antigen detection. *Clin Diagn Virol* 1997;8:219-226.
- 282.- Ireland DC, Nicholson KG. Diagnosis of respiratory syncytial virus infections using GACELISA of urinary antibodies. *J Immunol Methods* 1996;195:73-80.

- 283.- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg ED, et al. En: Manual Moderno, 13ª ed. México DF: Microb Medica;1990:127-128.
- 284.- Gamazo C, Díaz R. Fijación del complemento. En: Díaz R, Gamazo C, López-Goñi I. Manual Práctico Microbiología, 2ª ed. Masson;1990:186-200.
- 285.- Aplicaciones de la Inmunología. En: Totura GJ, Fuente BR, Case CL. Introducción a la Microbiología, 3ª ed. Zaragoza: Acribia SA;1993:439-448.
- 286.- Diseminación y control de la Infección. En: Ryan KJ, Ray CG. Microbiología Médica, 4ª ed. México:McGrawHill;2004:264-272.
- 287.- Martín-Torres F, Rodríguez A, Martín JM. Bronquiolitis aguda: evaluación del tratamiento basado en la evidencia. An Esp Pediatr 2001;55:345-354.
- 288.- Mitchell I. Treatment of RSV bronchiolitis: drugs, antibiotics. Paediatr Respir Rev 2009;10:14-15.
- 289.- Pilar FJ, Casado J, García MA, et al. Infecciones respiratorias agudas en Unidades de Cuidados Intensivos Pediátricos. Estudio prospectivo multicéntrico. An Esp Pediatr 1998;48:138-142.
- 290.- Yanney M, Vyas H. The treatment of bronchiolitis. Arch Dis Child 2008;93:793-798.
- 291.- Panitch HB. Respiratory syncytial virus bronchiolitis: supportive care and therapies designed to overcome airway obstruction. Pediatr Infect Dis J 2003;22:S83-88.
- 292.- Garzon L, Wiles L. Management of respiratory syncytial virus with lower respiratory tract infection in infants and children. AACN Clin Issues 2002;13:421-430.
- 293.- Quittell LM, Wolfson MR, Schidlow DV. The effectiveness of chest physical therapy (CPT) in infants with bronchiolitis. Am Rev Respir Dis 1988;137:406A.
- 294.- Lugo RA, Salyer JW, Dean JM. Albuterol in acute bronchiolitis continued therapy despite poor response? Pharmacotherapy 1998;18:198-202.

- 295.- American Academy of Pediatrics (AAP) Subcommittee on Diagnosis and Management of Bronchiolitis. Diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2006;118-:1774-1793.
- 296.- Bertrand P, Aranibar H, Castro E, et al. Efficacy of nebulized epinephrine versus salbutamol in hospitalized infants with bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol* 2001;31:284-288.
- 297.- Schuh S, Coates AL, Binnie R, et al. Efficacy of oral dexamethasone in outpatients with acute bronchiolitis. *J Pediatr* 2002;140:27-32.
- 298.- Schindler M. Do bronchodilators have an effect on bronchiolitis? *Crit Care* 2002;6:111-112.
- 299.- Everard ML, Bra A, Kurian M. Anticholinergic drugs for wheeze in children under the age of two years. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002:CD001279.
- 300.- Sammartino LP, Lines D. Efficacy of ipratropium bromide by metered dose aerosol and aerochamber in acute paediatric bronchiolitis. *J Paediatr Child Helth* 1997;33:459.
- 301.- Lipworth BJ. Systemic adverse effects of inhaled corticosteroid therapy: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 1999;159:941-955.
- 302.- Callen Blecua M, Aizpurua Galdeano P, Ozcoidi Erro I, et al. Inhaled corticosteroids and wheezing post-bronchiolitis (in Spanish). *An Esp Pediatr* 2000;52:351-355.
- 303.- Berger I, Argaman Z, Schwartz SB, et al. Efficacy of corticosteroids in acute bronchiolitis: short-term and long-term follow-up. *Pediatr Pulmonol* 1998;26:162-166.
- 304.- Rosevelt G, Sheehan K, Grupp-Phelan J, et al. Dexamethasone in bronchiolitis: a randomized controlled trial. *Lancet* 1996;348:292-295.
- 305.- Davies HD, Matlow A, Petric M, et al. Prospective comparative study of viral, bacterial, and atypical organism identified in

- pneumonia and bronchiolitis in hospitalized Canadian infants. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:371-375.
- 306.- Samson L, Cooke C, MacDonald N. Analysis of antibiotic use and misuse in children hospitalized with RSV infection. *Paediatr Child Health* 1999;4:195-199.
- 307.- Randolph AG, Wang EEL. Ribavirin for respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2000:CD000181.
- 308.- Guerguerian MA, Gauathier M, Lebel MH, et al. Ribavirin in ventilated respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am J Crit Care Med* 1999;160:829-834.
- 309.- Mandelberg A, Tal G, Witzling M. Nebulized 3% hypertonic saline solution treatment in hospitalized infants with viral bronchiolitis. *Chest*. 2003;123:481-487.
- 310.- Hollman G, Shen G, Zeng L, Yngsdal-Krenz R, et al. Helium-oxygen improves Clinical Asthma Scores in children with acute Bronchiolitis. *Crit Care Med* 1998;26:1737-1736.
- 311.- Martínón-Torres F, Picón Cotos M, Fernández Cebrián S, et al. HélioX: Una nueva opción terapéutica en la bronquiolitis aguda [resumen]. *An Esp Pediatr* 2001;54 (Supl):32-33.
- 312.- Tibby SM, Hatherill M, Wright SM, et al. Exogenous surfactant supplementation in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1283-1287.
- 313.- Kerr MH, Paton JY. Surfactant protein levels in severe respiratory syncytial virus infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1115-1118.
- 314.- Skeleton R, Holland P, Darowski M, et al. Abnormal surfactante composition and activity in severe bronchiolitis. *Acta Paediatr* 1999;88:942-946.
- 315.- Levine A, Elliot J, Whitesett J et al. Surfactant protein-de enhances phagocytosis and pulmonary clearance of respiratory syncytial virus. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:193-199.

- 316.- Tibby SM, Hatherill M, Wright SM, et al. Exogenous surfactant supplementation in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care* 2000;162:1251-1256.
- 317.- Johnston D, Kuzemko J. Virus induced apnoea and theophylline. *Lancet*. 1992;340:1352.
- 318.- Figueras J, Quero J y Comité de Estándares de la Sociedad Española de Neonatología. Recomendaciones para la prevención de la infección por virus respiratorio sincitial. *An Pediatr (Barc)* 2005;63:357-362.
- 319.- Wang EEL, Tang NK. Immunoglobulin for preventing respiratory syncytial virus infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2007 Jul 18:CD001725.
- 320.- Rimensberger PC, Burek-Kozłowska A, Morell A, et al. Aerosolized immunoglobulin treatment of respiratory syncytial virus infection in infants. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:209-216.
- 321.- Boekh M, Berrey MM, Bowden RA, et al. Phase I evaluation of the respiratory syncytial virus-specific monoclonal antibody palivizumab in recipients of hematopoietic stem cell transplants. *JID* 2001;184:350-354.
- 322.- Saez-Llorens X, Moreno MT, Ramilo O, et al. Safety and pharmacokinetics of palivizumab therapy in children hospitalized with respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:707-712.
- 323.- Simoes EAF. Respiratory syncytial virus infection. *Lancet* 1999;354:847-852.
- 324.- American Academy of Pediatric. Prevention of respiratory syncytial virus infections: Indication for the use of palivizumab and update on the use of RSV-IGIV. *Pediatrics* 1998;102:1211-1216.
- 325.- Carbonell X, Giuffré L, Gorman WA, et al. Guidelines for use of Synagis® (palivizumab), a humanized monoclonal antibody, for prevention of respiratory syncytial virus (RSV) disease in high risk infants: a consensus opinion. *Infections in Medicine* 1999;16:29-33.

- 326.- Carbonell X, Sanchez A, García F, et al. Prevención de las infecciones por virus respiratorio sincitial en España. Reunión de Consenso, Barcelona 26 de junio de 1999. *Pediatr Infect Dis J (Supl ed. Esp.)*, octubre 1999.
- 327.- Piedra PA. Clinical experience with respiratory syncytial virus vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S94-99.
- 328.- Schickli JH, Dubovxky F, Tang RS. Challenges in developing a pediatric RSV vaccine. *Hum Vaccin* 2009;5:582-591.
- 329.- Juhasz K, Whitehead SS, Boulanger CA, et al. The two amino acid substitutions in the L protein of cpts530/1009, a live attenuated respiratory syncytial virus candidate vaccine, are independent temperature-sensitive and attenuation mutations. *Vaccine* 1999;17:1416-1424.
- 330.- Nokes JD, Cane PA. New strategies for control of respiratory syncytial virus infection. Nokes JD, Cane PA. *Curr Opin Infect Dis* 2008;21:639-643.
- 331.- Mohapatra SS. Mucosal gene expression vaccine: a novel vaccine strategy for respiratory syncytial virus. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S100-103.
- 332.- Mao HQ, Roy K, Troung-Le VL, et al. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency. *J Control Release* 2001;70:399-421.
- 333.- González J, Ochoa C; Grupo de revisión y panel de expertos de la Conferencia de Consenso del Proyecto aBREVIADo (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y ADecuación). Conferencia de consenso sobre bronquiolitis aguda (I): metodología y recomendaciones. *An Pediatr (Barc)* 2010;72:221.e1-221.e33.
- 334.- Ochoa C, González J; Grupo de revisión y panel de expertos de la Conferencia de Consenso del Proyecto aBREVIADo (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y ADecuación). Conferencia de consenso sobre bronquiolitis aguda (VI): pronóstico en la bronquiolitis

- aguda. Revisión de la evidencia científica. *An Pediatr (Barc)* 2010;72:354.e1-354.e34.
- 335.- González J, Ochoa C; Grupo de revisión y panel de expertos de la Conferencia de Consenso del Proyecto aBREVIADo (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y ADecuación). Conferencia de consenso sobre bronquiolitis aguda (V): prevención de la bronquiolitis aguda. Revisión de la evidencia científica. *An Pediatr (Barc)* 2010;72:353.e1-353.e26.
- 336.- Alonso A, Andrés JM, Garmendia JR et al. Bronchiolitis due to respiratory syncytial virus in hospitalized children: a study of seasonal rhythm. *Acta Paediatr* 2007;96:731-735.
- 337.- Ochoa C, González J; Grupo de revisión y panel de expertos de la Conferencia de Consenso del Proyecto aBREVIADo (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y ADecuación). Conferencia de consenso sobre bronquiolitis aguda (II): epidemiología de la bronquiolitis aguda. Revisión de la evidencia científica. *An Pediatr (Barc)* 2010;72:222.e1-222.e26.
- 338.- Figuerola J, Osona B. La bronquiolitis aguda inducida por virus y la genética. *An Pediatr (Barc)* 2010;73:159-161.
- 339.- Ochoa C, González J; Grupo de revisión y panel de expertos de la Conferencia de Consenso del Proyecto aBREVIADo (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y ADecuación). Conferencia de consenso sobre bronquiolitis aguda (III): diagnóstico de la bronquiolitis aguda. Revisión de la evidencia científica. *An Pediatr (Barc)* 2010;72:284.e1-284.e23.
- 340.- Simó M, Claret G, Luaces C et al. Guía de práctica clínica sobre la bronquiolitis aguda: descripción de la metodología utilizada. *An Pediatr (Barc)* 2010;73:207.e1-207.e8.
- 341.- Simó M, Claret G, Luaces C et al. Guía de práctica clínica sobre la bronquiolitis aguda: recomendaciones para la práctica clínica. *An Pediatr (Barc)* 2010;73:208.e1-208.e10.

- 342.- González J, Ochoa C; Grupo de revisión y panel de expertos de la Conferencia de Consenso del Proyecto aBREVIADo (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y ADecuación). Conferencia de consenso sobre bronquiolitis aguda (IV): tratamiento de la bronquiolitis aguda. Revisión de la evidencia científica. An Pediatr (Barc) 2010;72:285.e1-285.e42.
- 343.- González J, Ochoa C; Grupo de revisión y panel de expertos de la Conferencia de Consenso del Proyecto aBREVIADo (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y ADecuación). Estudio de la variabilidad en el abordaje de la bronquiolitis aguda en España en relación con la edad de los pacientes. An Pediatr (Barc) 2010;72:4-18.

